

**Universidade Federal de Sergipe**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**



**Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas**

**SISTEMAS NANOESTRUTURADOS A BASE DE PPG-5  
CETETH-20, ÁGUA E ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium  
aromaticum*: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E  
APLICAÇÃO NO CONTROLE LARVICIDA DO *Aedes aegypti***

**Dissertação de mestrado apresentada por**

**KATHLYN PINHEIRO DOS SANTOS**

São Cristóvão - SE

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**SISTEMAS NANOESTRUTURADOS A BASE DE PPG-5  
CETETH-20, ÁGUA E ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium  
aromaticum*: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E  
APLICAÇÃO NO CONTROLE LARVICIDA DO *Aedes aegypti***

**KATHLYN PINHEIRO DOS SANTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rogéria de Souza Nunes

São Cristóvão/SE

2016

## FICHA CATALOGRÁFICA

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S237s Santos, Kathlyn Pinheiro dos  
Sistemas nanoestruturados a base de PPG-5 CETETH-20, água e óleo essencial de *Syzygium aromaticum*: obtenção, caracterização e aplicação no controle larvica do *Aedes aegypti* / Kathlyn Pinheiro dos Santos; orientadora Rogéria de Souza Nunes. – São Cristovão, 2016.

100 f.: il.

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, 2016.

1. *Aedes aegypti*. 2. Essências e óleos essenciais. 3. Inseticidas. I. Nunes, Rogéria de Souza, orient. II. Título.

CDU 615.285.7: 665.52//. 54

KATHLYN PINHEIRO DOS SANTOS

**SISTEMAS NANOESTRUTURADOS A BASE DE PPG-5  
CETETH-20, ÁGUA E ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium  
aromaticum*: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E  
APLICAÇÃO NO CONTROLE LARVICIDA DO *Aedes aegypti***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 26/07/2016

---

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rogéria de Souza Nunes

---

1º Examinador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Renata Cristina Kiatkoski kaminski

---

2º Examinador (a): Prof. Dr. Adriano Antunes de Souza Araújo

PARECER

---

---

---

Ao meu avô, José Pinheiro Rosa (*In memoriam*)

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, sempre tão fiel e presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, Leide e Francisco, pelo amor incondicional, aos meus cunhados Maurício e Cacá, e às minhas irmãs Keila e Kesley, pelo apoio, amor, carinho e por me auxiliar sempre que precisei.

Ao meu noivo Fabrício, presente de Deus em minha vida, pela paciência, amor, amizade, companheirismo, por estar ao meu lado em todos os momentos, me dando força para continuar acreditando no meu potencial. Muito obrigada. Amo você, vida!

À minha orientadora, Dra. Rogéria de Souza Nunes, pela orientação, dedicação, compreensão, paciência e disponibilidade que demonstrou durante estes anos, bem como pela oportunidade de crescimento e amadurecimento pessoal e profissional. Muitíssimo obrigada.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmento, pelos ensinamentos e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

A todos do laboratório de Farmacotécnica da UFS, em especial a Alyne, Ju, Joyce, Guilherme, Dani, Mayana e Layane. A vocês quero agradecer pela colaboração, carinho, amizade, torcida e é claro, pela maravilhosa recepção no laboratório durante esses dois anos de mestrado. Obrigada por tudo.

Aos meus amigos do mestrado Vanessa, Glauciene, Yasmin, Givalda e Ulisses, pela enorme ajuda nos trabalhos experimentais, pelas sugestões valiosas de cada uma de vocês, assim como pela amizade, carinho e companheirismo nas horas em que eu mais precisei.

Aos professores Adriano, Francilene, Anamélia, Silvio, Renata, Roseli e Sócrates, pelas sugestões, colaborações e/ou disponibilidade de materiais, equipamentos e laboratórios para a realização de alguns experimentos.

À FAPITEC, pelo apoio financeiro concedido para a execução deste trabalho. Enfim, a todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

## RESUMO

*Aedes aegypti* é o principal vetor dos vírus da dengue, febre amarela urbana e arboviroses emergentes no Brasil, como chikungunya e zika. O uso de inseticidas químicos ainda é o principal mecanismo de controle do vetor, seu uso indiscriminado tem provocado o surgimento de insetos resistentes além da toxicidade aos mamíferos e ao meio ambiente. Os óleos essenciais tais como o óleo essencial de *Sizygium aromaticum* (OESA) surge como alternativa no controle do *Ae. aegypti*. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar sistemas nanoestruturados a partir da utilização de PPG-5 CETETH-20 (Álcool cetílico propoxilado 5 OP etoxilado 20 OE), água, alginato de sódio e óleo essencial de *Sizygium aromaticum* (OESA) com potencial aplicação no controle larvicida do *Ae. aegypti*. Primeiramente, foi feita a extração e a caracterização do OESA. Os sistemas foram obtidos através da construção do diagrama de fases composto por água, PPG-5 CETETH-20: ácido oléico (AO) na proporção 2:1 e OESA, e caracterizados através das técnicas de microscopia de luz polarizada (MLP), espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS) e análise reológica. Neste diagrama optou-se por um precursor de fase líquido cristalina para incorporação do polímero alginato de sódio, a fim de aumentar a resistência do sistema ao intumescimento. Também foram feitos acréscimos de água no precursor e em seguida caracterizados pelas técnicas citadas. A atividade larvicida foi avaliada a partir da determinação da concentração letal média (CL<sub>50</sub>) contra as larvas do *Ae. aegypti*. De acordo com os resultados obtidos o principal constituinte do OESA foi o eugenol (76,75%), o rendimento do óleo foi de 3,66% (p/v) e densidade de 1,04 g/mL. Foram observadas quatro regiões distintas no diagrama, cristal líquido (CL), emulsão (EM), microemulsão (ME) e separação de fases. Através das imagens de MLP foi possível observar sistemas isotrópicos como MEs e sistemas anisotrópicos como CLs lamelares. As medidas de SAXS confirmaram as estruturas visualizadas por MLP, exibindo picos largos e de baixa intensidade para MEs, transição de fase e razão entre os picos de CL lamelar de 1: 2: 3. O estudo das propriedades reológicas demonstrou que os sistemas MEs e transição de fase são newtonianos e os CLs são não-newtonianos. Com o aumento de fase aquosa o precursor de fase apresentou um maior grau de estruturação, transformando-se em sistemas líquidos cristalinos lamelares. Confirmado através das técnicas de MLP com a visualização de “cruzes de malta”, SAXS com razões de 1: 2: 3 e análise reológica apresentando um aumento no módulo de armazenamento. Após a incorporação do polímero, os sistemas apresentaram-se anisotrópicos com mistura de fases, possuindo características de sistema Lamelar e sistema hexagonal, observados na MLP e confirmados pelas medidas de SAXS, onde apresentaram razões de 1: 2: 3 e 1: 1,73: 2: 2,64 característicos de CL lamelares e hexagonais. Através da análise reológica foi possível observar um aumento no módulo de armazenamento independente da frequência, característico de sistemas estruturados. Para a atividade larvicida, as amostras A2 e F8 demonstraram CL<sub>50</sub> de 8,14 e 3,37 ppm, respectivamente, indicando que a presença do polímero contribuiu para uma maior atividade larvicida. Desse modo, pode-se concluir que foram obtidos precursores de fase com potencial uso contra as larvas de *Ae. aegypti*.

**Palavras-chave:** *Aedes aegypti*, cristais líquidos, precursores de fases, *Sizygium aromaticum*, alginato de sódio.



## ABSTRACT

*Aedes aegypti* is the main vector of the dengue virus, urban yellow fever and emerging arboviruses in Brazil as Zika and Chikungunya. The use of chemical pesticides is still the main control mechanism vector, their overuse has led to the emergence of resistant insects besides mammalian toxicity and the environment. Essential oils such as essential oil *Sisymbrium aromaticum* (OESA) is an alternative in control of *Ae. aegypti*. In this context, the aim of this study was to develop and characterize nanostructured systems from the use of PPG-5 CETETH-20 (cetyl alcohol propoxylated 5 OP ethoxylate 20 EO), water, sodium alginate and essential oil *Sisymbrium aromaticum* (OESA) with potential application in larvicide control of *Ae. aegypti*. The systems were obtained by phase diagram composed of water, oleic acid, PPG-5 CETETH-20 (OA) in the ratio 2: 1 and OESA, and characterized by techniques polarized light microscopy (MLP), Small angle X-ray scattering (SAXS) and rheological analysis. In this diagram, we chose a liquid crystalline phase precursor to polymer incorporation of sodium alginate, to increase the physical stability of the system. Were also made in water increases precursor and then characterized by such techniques. The larvicidal activity was evaluated from the determination of the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) against *Ae. aegypti*. According to the results the main constituent of OESA was eugenol (76.75 %), oil yield was 3.66% (w / v) and density of 1.04 g / ml. We observed four distinct regions of the diagram, liquid crystal (LC) emulsion (ME), microemulsion (ME) and phase separation. Through the images of MLP was observed isotropic systems as (MEs) and anisotropic systems as lamellar CLs. The SAXS measurements confirmed the structures visualized by MLP, showing broad peaks of low intensity for MEs, phase transition and the ratio between CL lamellar peaks of 1: 2: 3. The study showed that the rheological properties of the systems and MEs phase transition are Newtonians and LCs are non-Newtonian. With the aqueous phase the increased phase precursor showed a greater degree of structuring, becoming lamellar liquid crystalline systems. Confirmed through the MLP techniques to display "Maltese crosses" SAXS with ratios of 1: 2: 3 and rheological analysis with an increase in storage modulus. After incorporating polymer, systems are presented anisotropic with lamellar system characteristics and hexagonal system having more than one set of lamellae observed in the MLP and confirmed by SAXS measurements, which showed ratios of 1: 2: 3 to lamellar CL and 1: 1.73: 2: 2.64 hexagonal CL. In rheological analysis showed an increase in independent storage modulus of the characteristic frequency of structured systems. For the larvicidal activity, A2 and F8 samples showed LC<sub>50</sub> 8.14 and 3.37 ppm, respectively, indicating the presence of the polymer contributed to a better larvicidal activity. Thereby, it can be concluded that there were obtained phase precursors with a potential use against *Ae. aegypti* larvae.

**Key words:** *Aedes aegypti*, Liquid Crystals, precursor phases, *Sisymbrium aromaticum*, sodium alginate.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Ciclo Biológico do <i>Ae. aegypti</i> . Mosquito adulto (A), ovos (B), larva de 1º estágio (C), larva de 2º estágio (D), larva de 3º estágio (E), larva de 4º estágio (F) e pupa (G). .....	20
<b>Figura 2</b> – Árvore, botões florais não abertos, botões secos.....	29
<b>Figura 3</b> – Estrutura química do Eugenol. ....	30
<b>Figura 4</b> – Representação esquemática dos tensoativos .....	31
<b>Figura 5</b> – Formação de estruturas líquido-cristalinas baseada no Parâmetro de Empacotamento Crítico (PEC) do tensoativo .....	33
<b>Figura 6</b> – Representação esquemática de um diagrama de fases ternário.....	34
<b>Figura 7</b> – Representação esquemática dos três tipos de ME mais comumente encontradas: (1) óleo/água; (2) bicontínua e (3) água/óleo.....	35
<b>Figura 8</b> – Representação esquemática das fases líquido cristalinas: (A) lamelar, (B) Hexagonal normal, (C) hexagonal invertida, (D) cúbica de corpo centrado e (E) cúbica bicontínua.....	37
<b>Figura 9</b> – Fórmula geral de um álcool graxo etoxilado e propoxilado (PPG-5-Ceteth 20). .....	41
<b>Figura 10</b> – Estrutura Química do Ácido oleico. ....	41
<b>Figura 11</b> – Cromatograma (CG/EM) do óleo essencial de <i>Sizygium aromaticum</i> ....	55
<b>Figura 12</b> – Formulações obtidas a partir do diagrama de Fases Pseudo-Ternário PPG-5 CETETH-20: AO 2:1/OESA/ÁGUA. Linha de diluição A (Figura 13). .....	56
<b>Figura 13</b> – Diagrama Pseudo-Ternário PPG-5 CETETH-20: AO 2:1/OESA/ÁGUA. ....	57
<b>Figura 14</b> – <b>(a)</b> Fotomicrografia representativa de um comportamento isotrópico (campo escuro), obtida da ME A1 (1). <b>(b)</b> Curvas de SAXS das amostras A1 e A2 (2). ....	58
<b>Figura 15</b> – Avaliação estrutural das amostras B1e B2 por SAXS. ....	59
<b>Figura 16</b> – Fotomicrografias das amostras A3, A4, A5, A6, A7, B3, B4, B5 e B6 obtidas por Microscopia de luz polarizada. Fotomicrografias tiradas a 20.000x de todas as amostras. ....	60

<b>Figura 17</b> – Avaliação estrutural das amostras <b>(A)</b> A1 a A7 e <b>(B)</b> B1 a B6 por SAXS.	62
<b>Figura 18</b> – Reograma das amostras A1, A2, B1, B2, tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento.	63
<b>Figura 19</b> – Módulo de armazenamento ( $G'$ ) e módulo de perda ( $G''$ ) em função da frequência referente as amostras A3 a A7.	65
<b>Figura 20</b> – Módulo de armazenamento ( $G'$ ) e módulo de perda ( $G''$ ) em função da frequência referente as amostras B3 a B6.	65
<b>Figura 21</b> – Diagrama de fases representando os pontos de acréscimo de 10 a 70% de água em A2.	67
<b>Figura 22</b> – Fotomicrografias ilustrando o efeito da água na estruturação do precursor de fase A2, obtidas por Microscopia de luz polarizada (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 % de água adicionada). Fotomicrografias tiradas a 20.000x de todas as amostras.	68
<b>Figura 23</b> – Avaliação estrutural das amostras FA1 a FA7 por SAXS.	69
<b>Figura 24</b> – Módulo de armazenamento ( $G'$ ) em função da frequência referente às amostras $G'$ FA1 a $G'$ FA7.	71
<b>Figura 25</b> – <b>(a)</b> Fotomicrografia da amostra F8 por microscopia de luz polarizada. <b>(b)</b> Avaliação estrutural da amostra F8 por SAXS.	72
<b>Figura 26</b> – Fotomicrografias das amostras F9, F10, F11, F12, F13, F14 e F15 (10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 % de água). Fotomicrografias tiradas a 20.000x de todas as amostras.	73
<b>Figura 27</b> – Avaliação estrutural através da técnica de SAXS das amostras F9 e F15.	74
<b>Figura 28</b> – Módulo de armazenamento ( $G'$ ) em função da frequência referente às amostras $G'$ F9 a $G'$ F15.	76
<b>Figura 29</b> – <b>(a)</b> Fotografia do experimento da avaliação da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) da amostra A2 frente às larvas de <i>Ae. aegypti</i> . <b>(b)</b> Fotografia do experimento da avaliação da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) da amostra F8 frente às larvas de <i>Ae. aegypti</i> .	77

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Composição centesimal das amostras do diagrama PPG-5 CETETH-20: AO 2:1/ OESA/ Água.....	50
<b>Tabela 2</b> – Constituintes Químicos do OESA .....	55
<b>Tabela 3</b> – Valores de $q_{\text{máx}}$ e razão entre as distâncias interplanares para as amostras A1 a A7 e B1 a B6. ....	61
<b>Tabela 4</b> – Valores da viscosidade ( $\eta$ ) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para as amostras A1, A2, B1 e B2 do diagrama PPG 5 CETETH 20: AO 2:1. ...	64
<b>Tabela 5</b> – Proporções de fase aquosa, oleosa e tensoativo após incorporação de 10, 20,30, 40, 50, 60 e 70 % de água em A2. ....	67
<b>Tabela 6</b> – Valores de $q_{\text{max}}$ e razão entre as distâncias interplanares para as formulações FA1 a FA7.....	70
<b>Tabela 7</b> – Valores de $q_{\text{max}}$ (Å) e razão entre as distâncias interplanares para as formulações F8 a F15. ....	75
<b>Tabela 8</b> – $CL_{50}$ das amostras A2 e F8 frente às larvas de <i>Ae. Aegypti</i> em L3/L4, após 24h de exposição. ....	77

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aedes aegypti</i>
CHIKV	Vírus Chikungunya
CLL	Cristais Líquidos Liotrópicos
CLs	Cristais Líquidos
CLT	Cristais Líquidos Termotrópicos
CMC	Concentração Micelar Crítica
DENV	Vírus da Dengue
EHL	Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo
EM	Emulsão
EMs	Emulsões
FID	Detector de Ionização de Chama
LNLS	Laboratório Nacional de Luz Sincrotron
Mis	Micelas
MLP	Microscopia de Luz Polarizada
MS	Ministério da Saúde
OEs	Óleos Essenciais
OESA	Óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
P:AO	Procetyl: Ácido Oléico
PEC	Parâmetro de Empacotamento Crítico
SAXS	Espalhamento de Raios-X a baixo ângulo
SF	Separação de fases
SGB	Síndrome de Guillain-Barré
ZIKV	Vírus Zika

## LISTA DE SÍMBOLOS

$G'$	Módulo de Armazenamento
$G''$	Módulo de Perda
$I(q)$	Função de espalhamento de uma partícula isolada
L3/ L4	Terceiro a quarto estágio das larvas de <i>Ae. aegypti</i>
$L\alpha$	Cristal Líquido lamelar
$q$	Vetor de espalhamento
$\eta$	Viscosidade
$H_1$	Cristal Líquido Hexagonal

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1</b>	<b>ARBOVIROSES .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2</b>	<b>AEDES AEGYPTI, O MOSQUITO VETOR .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>DOENÇAS TRANSMITIDAS PELO AEDES AEGYPTI .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Febre Amarela .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Dengue .....</b>	<b>22</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Chikungunya .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Zika .....</b>	<b>24</b>
<b>2.4</b>	<b>CONTROLE DO AE. AEGYPTI.....</b>	<b>25</b>
<b>2.5</b>	<b>ÓLEOS ESSENCIAIS.....</b>	<b>27</b>
<b>2.5.1</b>	<b>Aspectos Gerais .....</b>	<b>27</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i> .....</b>	<b>28</b>
<b>2.6</b>	<b>SISTEMAS FORMADOS POR TENSOATIVOS .....</b>	<b>31</b>
<b>2.6.1</b>	<b>Tensoativos.....</b>	<b>31</b>
<b>2.6.2</b>	<b>Diagramas de Fases .....</b>	<b>33</b>
<b>2.6.3</b>	<b>Microemulsões.....</b>	<b>34</b>
<b>2.6.4</b>	<b>Cristais Líquidos.....</b>	<b>36</b>
<b>2.6.5</b>	<b>Precursores de Fase .....</b>	<b>38</b>
<b>2.7</b>	<b>POLÍMEROS .....</b>	<b>39</b>
<b>2.8</b>	<b>COMPONENTES DO SISTEMA .....</b>	<b>40</b>
<b>2.9</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....</b>	<b>41</b>
<b>2.9.1</b>	<b>Microscopia de Luz Polarizada (MLP).....</b>	<b>41</b>
<b>2.9.2</b>	<b>Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS) .....</b>	<b>42</b>
<b>2.9.3</b>	<b>Reologia .....</b>	<b>43</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>47</b>
<b>3.1</b>	<b>GERAL .....</b>	<b>47</b>
<b>3.2.</b>	<b>ESPECÍFICOS .....</b>	<b>47</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>48</b>
<b>4.1</b>	<b>MATERIAL .....</b>	<b>48</b>
<b>4.1.1</b>	<b>Reagentes e Solventes.....</b>	<b>48</b>

4.1.2	<b>Equipamentos</b>	48
4.2	<b>MÉTODOS</b>	48
4.2.1	<b>Extração e Caracterização do óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i></b>	48
4.2.1.1	<i>Extração do óleo essencial</i>	48
4.2.1.2	<i>Determinação da densidade do óleo essencial</i>	49
4.2.1.3	<i>Identificação dos Constituintes químicos do óleo essencial</i>	49
4.2.2	<b>Obtenção dos sistemas através do diagrama de fases</b>	49
4.2.3	<b>Caracterização dos sistemas</b>	51
4.2.3.1	<i>Microscopia de Luz Polarizada (MLP)</i>	51
4.2.3.2	<i>Espalhamento de Raios-X a baixo ângulo</i>	51
4.2.3.3	<i>Análise Reológica</i>	51
4.2.4	<b>Avaliação estrutural da formulação selecionada</b>	52
4.2.4.1	<i>Efeito da água na estrutura da formulação</i>	52
4.2.4.2	<i>Efeito do polímero na estrutura da formulação</i>	52
4.2.5	<b>Avaliação da atividade larvícida dos sistemas selecionados frente a larvas de <i>Ae. aegypti</i></b>	53
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	54
5.1	<b>EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE SYZYGIUM AROMATICUM</b>	54
5.1.1	<b>Rendimento e densidade do OESA</b>	54
5.1.2	<b>Constituintes químicos do OESA</b>	54
5.2	<b>OBTENÇÃO DOS SISTEMAS ATRAVÉS DO DIAGRAMA DE FASES</b>	56
5.3	<b>CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL</b>	58
5.4	<b>ESCOLHA DA FORMULAÇÃO A SER ESTUDADA</b>	66
5.5	<b>AVALIAÇÃO ESTRUTURAL DA FORMULAÇÃO SELECIONADA</b>	66
5.5.1	<b>Efeito da água na estrutura da formulação</b>	66
5.5.2	<b>Efeito do alginato de sódio na estrutura da formulação</b>	71
5.6	<b>AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL MEDIA (CL50) DOS SISTEMAS SELECIONADOS FRENTE AS LARVAS DE AE. AEGYPTI</b>	77
6	<b>CONCLUSÕES</b>	79
	<b>REFERÊNCIAS</b>	80
	<b>APÊNDICE A – RESUMO ACEITO NO I INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DRUG DELIVERY SYSTEMS</b>	98



## 1 INTRODUÇÃO

*Aedes aegypti* é o principal vetor da dengue, febre amarela urbana e arboviroses emergentes no Brasil como Chikungunya e Zika. São arboviroses de grande impacto sócio econômico, que afetam o ser humano e constituem sério problema de saúde pública no mundo. Ocorrem e disseminam-se especialmente nos países tropicais, em que as condições do meio ambiente favorecem o desenvolvimento e a proliferação do mosquito transmissor (FIGUEIREDO, 2007; LORMEAU *et al*, 2014).

Não possuem tratamento específico, sendo apenas sintomática e de suporte. Dessa forma, as medidas de combate ao mosquito continuam sendo a principal alternativa de evitar a proliferação dessas doenças (DIAS, 2011). As ações a fim de controlar ou erradicar o *Ae. aegypti* incluem a eliminação de seus criadouros, o controle químico com a utilização de inseticidas e o controle biológico com o emprego de organismos, algumas espécies de peixes, fungos e bactérias (DIAS, 2011; GARCEZ *et al*, 2013).

O uso intenso de inseticidas sintéticos apresenta sérios problemas, dentre os quais podemos destacar os danos causados ao meio ambiente, a toxicidade a saúde humana e o desenvolvimento de larvas e adultos resistentes (BERG *et al*, 2012). Em vista das dificuldades, a procura por novas substâncias de origem vegetal, novas metodologias naturais e menos agressivas tem crescido consideravelmente nos últimos anos, com o intuito de minimizar o impacto dos compostos sintéticos (CANDIDO; CAVALCANTI; BESERRA, 2013).

O reino vegetal constitui uma fonte valiosa na descoberta de novos agentes terapêuticos que apresentem compostos ativos com amplo espectro de ação, baixa toxicidade e custo reduzido (ANGIONI *et al*, 2006). Extratos vegetais e óleos essenciais são considerados fontes em potencial de substâncias biologicamente ativas, o que têm levado a realização de numerosas investigações em busca de novos compostos, destacando-se os óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas, conhecidos por suas propriedades larvicidas, antimicrobianas e antifúngicas, dentre outras (NAOMI, 2004).

Dentre os óleos essenciais que possuem atividade contra o *Ae. Aegypti* destacamos o óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (OESA), extraído dos botões floríferos secos da árvore de mesmo nome (COSTA *et al*, 2005). No entanto, assim

como todo óleo essencial, apresenta algumas limitações quando utilizado de forma direta (NAOMI, 2004).

Estas limitações podem ser solucionadas com a utilização de sistemas estabilizados por tensoativos, como sistemas micelares, emulsões, microemulsões, lipossomas e cristais líquidos (CORREA *et al*, 2005). Dentre os sistemas citados, selecionamos os cristais líquidos como potenciais sistemas de liberação. Esses sistemas são capazes de formar microambientes distintos que permitem compartimentalizar substâncias polares e apolares (BOYD *et al*, 2006). As mesofases líquido cristalinas são estruturas ordenadas com arranjo molecular caracterizado por regiões hidrofóbicas e hidrofílicas alternadas (LOPEZ *et al*, 2000), que podem ser alcançadas através do aumento da temperatura (termotrópicos) ou pela adição de um solvente (liotrópicos) (BURROWS; COLLET; ATTWOOD, 1994).

Estruturas organizadas em escala nanométrica na fase líquido cristalina são adequadas para retenção de óleos essenciais (OEs), sendo utilizados para favorecer a dispersão dos OEs no meio aquoso. Em estudo realizado por Ferreira (2014), o autor obteve sistemas precursores de fase contendo óleo essencial de *Citrus sinensis* com potencial aplicação no controle larvídica do *Ae. aegypti*. O desenvolvimento destes sistemas se justificou pela praticidade de aplicação. O sistema apresenta inicialmente aspecto líquido ao passo que ao ser aplicado em meio aquoso ocorre à estruturação. O resultado desta estruturação, conforme descreve o autor, é a obtenção de mesofase líquido cristalina, potencial candidato para veiculação do OE e no controle larvídica do *Ae. aegypti*.

Contudo, esses sistemas apresentam fragilidade em resistir ao intumescimento. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo obter e caracterizar sistemas nanoestruturados estabilizados por tensoativos a partir da utilização de água, alginato de sódio, óleo essencial *S. aromaticum* (OESA) e PPG-5 CETETH-20 (Álcool cetílico propoxilado 5 OP etoxilado 20 OE) para controle das larvas do *Ae. aegypti*. É levantada a hipótese de que a incorporação do alginato de sódio na composição da fase aquosa proporcione o aumento da resistência do sistema ao intumescimento, permanecendo estruturado por mais tempo favorecendo um efeito residual do OESA no meio aquoso.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 ARBOVIROSES

As arboviroses são doenças causadas por arbovírus, que são vírus transmitidos por artrópodes, são assim chamados, pois parte do seu ciclo de replicação ocorre nos insetos e podem ser transmitidos aos seres humanos e outros animais através da picada de artrópodes hematófagos. Os arbovírus apresentam uma ampla distribuição geográfica, no entanto, a maioria pode ser encontrada em áreas tropicais devido às condições climáticas favoráveis à manutenção do ciclo viral (VASCONCELOS *et al*, 2005).

O Brasil é um país tropical de extensa área territorial (pouco mais de 8.500.000 km<sup>2</sup>) e mais de 1/3 do território recoberto por florestas tropicais, apresenta condições ideais para a existência do vetor e, portanto, para a ocorrência de arboviroses (FIGUEIREDO, 2007). Nas regiões tropicais, as arboviroses têm se tornado constantes ameaças em decorrência das rápidas mudanças climáticas, desmatamentos, migração populacional, ocupação desordenada de áreas urbanas, precariedade das condições sanitárias que favorecem a amplificação e transmissão viral (RUST, 2012).

As arboviroses consideradas desafios para a saúde pública são aquelas que geram epidemias causadas pela picada do mosquito, pois há produção de viremia e consequente doença em seres humanos (VASCONCELOS *et al*, 1992). Os mosquitos do gênero *Aedes*, particularmente o *Ae. aegypti* é um vetor de arbovírus importantes em nível mundial, incluindo o vírus da dengue (DENV) (SIMMONS *et al*, 2012), vírus da febre amarela (JENTES *et al*, 2011), vírus chikungunya (CHIKV) (GOFFART *et al*, 2014) e o Zika vírus (ZIKV) (GOURINAT *et al*, 2015). Além do DENV, endêmico em quase todo o Brasil e causando epidemias há décadas, recentemente a introdução do CHIKV e do ZIKV no território brasileiro traz grande preocupação (HONÓRIO *et al*, 2015).

### 2.2 *Aedes aegypti*, O MOSQUITO VETOR

*Aedes aegypti* (Linnaeus 1762) é um mosquito originário da África, região da Etiópia, mas foi descrito no Egito, o que lhe conferiu seu nome específico. Tem

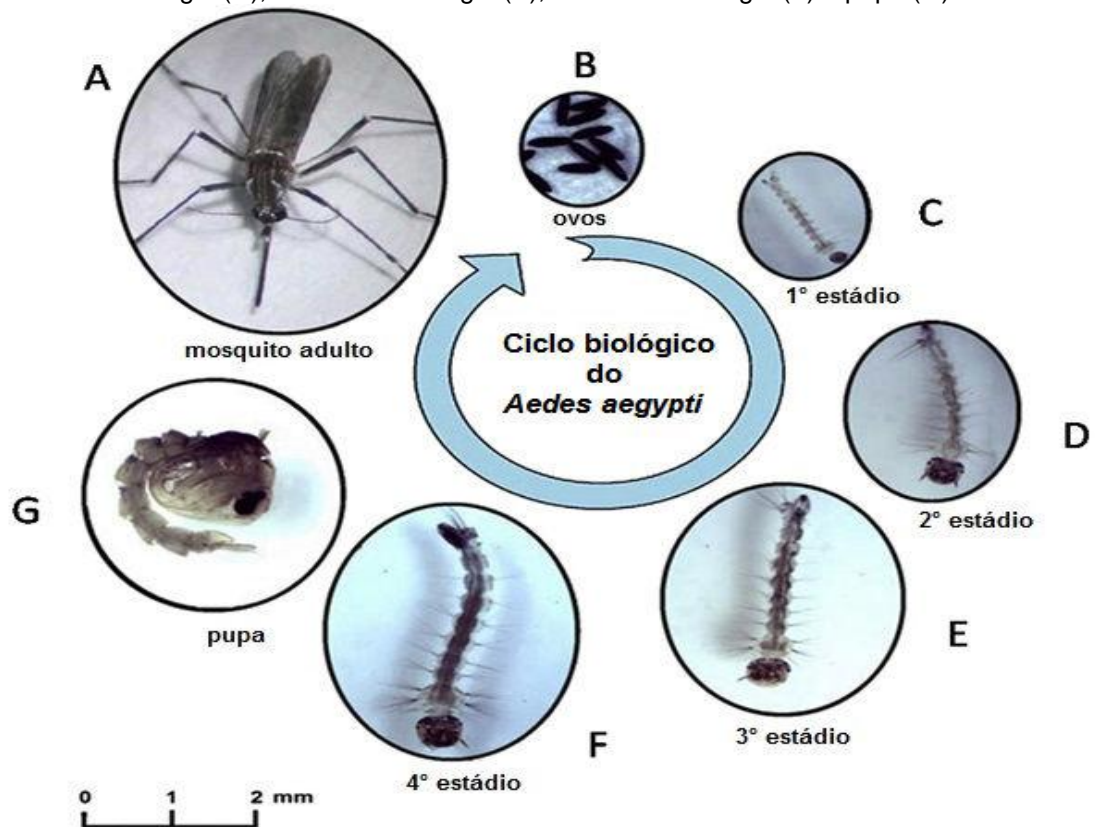
acompanhado o homem em sua permanente migração, provavelmente, chegou ao Brasil por volta do século XVI pelos navios negreiros, durante o período da colonização. Atualmente é um dos principais problemas em saúde pública, devido ao seu papel como transmissor dos vírus da dengue, febre amarela urbana, chikungunya e Zika (NELSON, 1986; FORATTINI, 2002; BISSET, 2002; KRAEMER *et al*, 2015).

No início do século XX, o *Ae. aegypti* foi identificado como vetor da febre amarela urbana, fato que levou a execução de rígidas ações de controle, e em 1955 considerou-se erradicado a existência do mosquito no Brasil. Porém, muitos países do continente não tiveram a mesma preocupação com o vetor, e assim anos depois o mosquito foi reintroduzido em nosso país e em outros países que também o haviam erradicado. A reintrodução do *Ae. aegypti* ocorreu em 1976 na cidade de Salvador, na Bahia, em função de falhas na vigilância epidemiológica e de mudanças sociais e ambientais decorrentes da intensa e desordenada urbanização dessa época (TEIXEIRA; BARRETO; GUERRA, 1999; TAUIL, 2002; BRAGA; VALLE, 2007).

O *Ae. aegypti* é um mosquito doméstico, antropofílico e utiliza-se preferencialmente de depósitos artificiais de água limpa e parada para colocar seus ovos. No entanto, apresenta grande capacidade de adaptação a novas situações impostas pelo homem, adaptando-se a outros tipos de criadouros, como bromélias e esgotos a céu aberto encontrados em vários centros urbanos. Está amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais entre os paralelos 45° de latitude norte e 35° de latitude sul, não se adaptando bem a grandes altitudes. Contudo, têm-se registros de sua presença a 2.600 metros acima do nível do mar, na Bolívia (TAUIL, 2002; VAREJÃO *et al*, 2005; ZAPANA, 2016).

O desenvolvimento do *A. aegypti* ocorre por metamorfose completa, passando por quatro estágios biológicos distintos: ovo, larva, pupa e adulto (Figura 1), onde os três primeiros estágios são aquáticos (MARINHO, 2010). No momento da postura, os ovos do *Ae. aegypti* se apresentam brancos, mas nas primeiras 24 horas adquirem a cor negra brilhante. O desenvolvimento embrionário se completa em 48 horas em condições de umidade e temperatura favoráveis (FUNASA, 2001).

**Figura 1** – Ciclo Biológico do *Ae. aegypti*. Mosquito adulto (A), ovos (B), larva de 1º estágio (C), larva de 2º estágio (D), larva de 3º estágio (E), larva de 4º estágio (F) e pupa (G).



Fonte: GERIS *et al* (2012).

Quando desenvolvidos, os ovos são capazes de resistir a longos períodos de dessecação, que podem prolongar-se por mais de um ano. Esta característica tem revelado uma grande capacidade de adaptação a diferentes situações ambientais desfavoráveis tornando-se um sério obstáculo para sua erradicação. Isso permite que os ovos sejam transportados a grandes distâncias em recipientes secos, tornando-se assim o principal meio de dispersão do inseto (dispersão passiva) (FUNASA, 2001; WHO, 2009).

As larvas possuem quatro estágios evolutivos (L1, L2, L3 e L4) e passam a maior parte do tempo alimentando-se principalmente de material orgânico acumulado nas paredes e fundo dos depósitos. A duração da fase larvária depende da temperatura, disponibilidade de alimento e densidade das larvas no criadouro. Em condições ótimas, o período entre a eclosão e a pupação pode não exceder a cinco dias. Contudo, em baixa temperatura e escassez de alimento, o 4º estágio larvário pode prolongar-se por várias semanas, antes de sua transformação em pupa (FUNASA, 2001).

É na fase de pupa que ocorre a metamorfose do estágio larval para o adulto. A pupa é o último estágio da fase aquática e possui o aspecto de vírgula. Estas não se alimentam e quando inativas se mantêm na superfície da água, flutuando, o que facilita a emergência do inseto adulto. Seu corpo escurece à medida que se aproxima o momento da emergência do adulto. O estado pupal dura, geralmente, de dois a três dias. Para passar da fase do embrião até a fase adulta (ovo, larva e pupa) demora em média dez dias (FUNASA, 2001).

Os mosquitos adultos estão na fase de reprodução e dispersão da espécie. Medem menos de um centímetro, possui corpo escuro com faixas brancas nas bases dos segmentos tarsais e alimentam-se de substâncias açucaradas, como néctar e seiva. Possuem um tempo médio de vida de 30 a 35 dias, podem acasalar 24 horas após emergirem e depois deste acasalamento as fêmeas precisam realizar a hematofagia, importante para o desenvolvimento completo dos ovos e sua maturação nos ovários. Encontram-se aptas para a postura dos ovos três dias após a ingestão de sangue, passando então a procurar local para desovar (FUNASA, 2001; COSTA, 2010).

## **2.3 DOENÇAS TRANSMITIDAS PELO *Aedes aegypti***

### **2.3.1 Febre Amarela**

A febre amarela (FA) é uma doença infecciosa febril aguda, endêmica em regiões da África e da América do Sul. Epidemiologicamente está dividida de duas formas, silvestre e urbana, que diferem entre si quanto ao agente envolvido na transmissão, hospedeiro amplificador e área de ocorrência. No ciclo silvestre, os vetores são os mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* e sua transmissão envolve primatas não humanos (macacos). Já no meio urbano, a disseminação se dá através do mosquito *Aedes aegypti* e ocorre de forma direta homem-mosquito (TAUIL, 2010; TRANQUILIN *et al*, 2013).

Seu agente etiológico pertence ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*. A infecção pelo vírus da FA produz uma ampla variedade de manifestações clínicas, que incluem desde a forma assintomática, oligossintomática, moderada até formas graves. As medidas de controle estão baseadas na eliminação dos vetores e, principalmente, na vacinação, a única forma eficaz de proteção contra a doença, que

confere imunidade por pelo menos 10 anos (MOTA *et al*, 2009; SARAIVA *et al*, 2013).

A primeira epidemia descrita no Brasil ocorreu no ano de 1685 em Recife, causando a morte de aproximadamente 600 pessoas em um ano. Em 1686, acometeu a cidade de Salvador, causando a morte de aproximadamente 900 pessoas durante os seis anos que ali esteve. A última grande epidemia urbana no Brasil ocorreu no Rio de Janeiro em 1929, totalizando 738 casos notificados com 478 óbitos. A partir de então, casos esporádicos ainda foram reportados em diversos estados, mas os últimos casos urbanos ocorreram em 1942, no município de Sena Madureira no Acre (NOBRE; ANTEZANA; TAUILL, 1994; LOWY, 2006; CARVALHO, 2009; COSTA *et al*, 2011b).

Desde então, todos os casos registrados foram decorrentes do ciclo silvestre de transmissão. O Brasil possui a maior área endêmica da forma silvestre da doença, as áreas de risco incluem o Centro Oeste, o Norte, o Maranhão e a parte ocidental dos estados de Minas Gerais, Bahia, Paraná, São Paulo, Rio Grande do Sul e Santa Catarina (TRANQUILIN, 2013; BRASIL, 2016).

### 2.3.2 Dengue

O agente etiológico da dengue é um arbovírus da família Flaviviridae, gênero *Flavivirus*, constituído de RNA e classificado em quatro sorotipos imunologicamente distintos entre si (DENV-1 a DENV-4) que podem causar a doença. Em 2013, foi descrito a existência de um quinto sorotipo. Esse novo sorotipo foi identificado em amostras de sangue de um paciente da Malásia, colhidas durante uma epidemia em 2007. Após o sequenciamento e análise do genoma foi obtida a confirmação do vírus dengue sorotipo cinco (DENV-5) (DIAZ CASTRILLÓN, 2004; NORMILE, 2013; MAMANI, 2014).

Atualmente, são mais de 100 países atingidos, predominando na África, Ásia, Américas Central e do Sul, portanto, considerada uma patologia de países pobres e em desenvolvimento. Trata-se de uma doença infecciosa febril aguda, presente em praticamente 100% do território Brasileiro, seu espectro inclui desde formas clinicamente inaparentes até quadros graves de hemorragia e choque, podendo evoluir para o óbito (SILVA; FERREIRA, 2006; BHATT *et al*, 2013).

Uma vez infectado, o indivíduo adquire imunidade para aquele sorotipo específico, o que provavelmente pode ocorrer pelo resto da vida. Ao mesmo tempo, promove proteção cruzada contra outros sorotipos durante um determinado tempo, aproximadamente doze semanas. Existe variação genética dentro de cada sorotipo e, aparentemente, alguns variantes genéticos podem ser mais virulentos. Ao que tudo indica, o tipo mais virulento é o DEN-3, seguido pelo DEN-2, DEN-4 e DEN-1. A virulência é diretamente proporcional à intensidade com que o vírus se multiplica no corpo (DÉGALLIER *et al*, 2000; KAO *et al*, 2005; PESSOA; FONTES; GABURO, 2005).

Mais de 1,4 milhões de casos foram registrados no Brasil em 2013. A região Sudeste foi responsável por 63,4% das notificações o equivalente a 936.500 pessoas infectadas. No ano de 2014, foram registrados 587,8 mil casos, uma queda de 59% em comparação a 2013. Em 2015, o país apresentou índice recorde de 1,6 milhões de casos, maior número já registrado desde 1990 e a região Sudeste registrou o maior número de notificações (1.026.226 de casos), 62,2% em relação ao total do país (BRASIL, 2014; BRASIL, 2015b).

Atualmente, há vários estudos em andamento na busca por vacinas específicas para dengue. Em dezembro de 2015, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) concedeu um registro ao tratamento, permitindo a utilização da vacina no território Brasileiro, a vacina Dengvaxia (CYD-TDV) do fabricante Sanofi Pasteur. A vacina é recomendada em localidades com alta incidência da doença e sua imunização é voltada para pessoas de 09 a 45 anos de idade. E não protege contra outros vírus transmitidos pelo *Ae.aegypti*, como os vírus Chikungunya e Zika (BRASIL, 2015a; SCHWARTZ *et al*, 2015).

### 2.3.3 Chikungunya

Chikungunya ou febre de chikungunya (CHIKV) é causada por um vírus do gênero *Alphavirus*, família *Togaviridae*, descrita pela primeira vez em um surto na Tanzânia em 1952. Caracteriza-se por quadros de febre alta de início súbito e debilitante associados a dores musculares, cefaleia e fortes dores nas articulações, principalmente punhos, tornozelos e cotovelos (AGUIAR, 2014; SÁNCHEZ; PERTUZ; SERRANO, 2015; HONÓRIO *et al*, 2015).



As dores nas articulações podem durar meses ou anos e se tornar uma causa de dor crônica e incapacidade, interferindo na qualidade de vida do indivíduo, com impactos econômicos significativos, devido à redução da produtividade. Apesar da propagação através da picada do mosquito ser responsável por praticamente todos os casos, existem outras possíveis formas de contaminação. Uma delas é a chamada transmissão vertical, que ocorre da mãe para o bebê no momento do parto. Não há relatos na literatura de transmissão pelo aleitamento materno (HONÓRIO *et al*, 2015; CAMELLO, 2014).

A introdução deste vírus no Brasil ocorreu no ano de 2014, os primeiros casos registrados foram adquiridos por brasileiros que haviam viajado para áreas endêmicas. Ao longo de 2014, foram confirmados 2.772 casos de CHIKV. Em 2015, foram notificados 37.779, em 604 municípios do país. Destes, 12.849 foram confirmados em 251 municípios. Foram confirmados cinco óbitos por febre chikungunya no Brasil, sendo 3 na Bahia, 1 em Sergipe e 1 em São Paulo. Conforme investigações, 4 desses óbitos ocorreram em indivíduos com idade acima de 65 anos (CAMELLO, 2014; HONÓRIO 2015; BRASIL, 2014; BRASIL, 2016). Até o momento, não há vacina ou tratamento específico contra o vírus da CHIKV, apenas sintomático. Comumente, utilizam-se analgésicos e antiinflamatórios não esteroides para a diminuição da dor e febre, contribuindo para melhoria dos sintomas causados pelo vírus (FIGUEIREDO; FIGUEIREDO, 2014).

#### **2.3.4 Zika**

O Zika vírus (ZIKV) é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, foi isolado pela primeira vez no final da década de 40 a partir do soro de um macaco Rhesus na floresta Zika, localizada em Uganda, na África, o que motivou sua denominação. De 1960 a 1980, as infecções humanas foram encontradas em toda a África e Ásia, tipicamente acompanhada por doença leve (ZANLUCA *et al*, 2015; KINDHAUSER *et al*, 2016).

Em 2007, foram documentadas epidemias causadas pelo ZIKV na Federação dos Estados da Micronésia (na ilha Yap), a primeira transmissão documentada fora do continente asiático e africano. A doença se disseminou rapidamente pelas ilhas do Oceano Pacífico e os primeiros casos ocorreram em outubro 2013 na Polinésia Francesa, evoluindo rapidamente para uma epidemia com 19.000 casos suspeitos e

284 casos confirmados. Alguns pacientes desenvolveram a síndrome de Guillain-Barré (SGB) durante o surto, relacionando a síndrome à infecção pelo ZIKV (LANCIOTTI *et al*, 2008; DUFFY *et al*, 2009; LORMEAU *et al*, 2014).

Na América do Sul, os primeiros relatos de infecção transmitida localmente vieram do Brasil, a circulação do vírus ocorreu no início de 2015, os primeiros casos surgiram na região de Camaçari na Bahia e em São Paulo, seguido pelos estados do Rio Grande do Norte, Alagoas, Maranhão, Pará e Rio de Janeiro. Em quadros mais severos, a infecção pelo ZIKV pode acometer o sistema nervoso central, sendo associada aos casos de microcefalia e a síndrome de Guillain-Barré (SGB) (VASCONCELOS, 2015).

Em Julho de 2015, o Ministério da Saúde (MS) informou uma associação entre infecção pelo vírus Zika e SGB, e em outubro de 2015 uma associação entre infecção pelo vírus Zika e microcefalia. Um aumento incomum em recém-nascidos com microcefalia, 1.248 novos casos suspeitos foram registrados, representando um aumento vinte vezes superior quando comparado com os últimos anos. Em novembro de 2015, o MS confirmou a relação entre a infecção pelo vírus Zika e o aparecimento de microcefalia (OEHLER *et al*, 2014; BRASIL, 2015b; ZANLUCA *et al*, 2015; COES, 2015; KINDHAUSER *et al*, 2016).

Menos frequentemente, a transmissão do ZIKV já foi descrita por hemotransfusão, por via perinatal e por via sexual. No entanto, a transmissão vetorial continua sendo o principal modo (ZANLUCA *et al*, 2015; BESNARD *et al*, 2014; MUSSO *et al*, 2014). Não há vacinas e nem tratamento específico para a doença, restando apenas à terapia sintomática (PINTO *et al*, 2014; VASCONCELOS, 2015; SVS; BRASIL, 2015b).

## **2.4 CONTROLE DO *Ae. AEGYPTI***

O controle da proliferação do vetor é a única maneira de prevenir a ocorrência dessas arboviroses, visto que, até o momento, não existe vacinas para prevenção contra o vírus Zika e Chikungunya, e a vacina contra os vírus da dengue ainda não se encontra disponível no mercado. O *Ae. aegypti* possui um alto grau de adaptação ao ambiente urbano, fato que dificulta o controle de sua densidade populacional, pois qualquer recipiente que acumule água se torna um potencial criadouro (KUBOTA; BRITO; VOLTOLINI, 2003; DIAS, 2006).

Nas últimas décadas, esse controle tem sido realizado mediante o uso de produtos químicos sintéticos, seja como larvicidas aplicados em locais de procriação em água parada ou como inseticidas para atingir os mosquitos adultos (OYEWOLE *et al*, 2010). Outros métodos auxiliares também são utilizados, como o controle físico que visa eliminar/reduzir o número de criadouros, controle biológico através do uso de organismos vivos e o uso de repelentes como proteção individual (TAUIL, 2001; TEIXEIRA, 2003; DIAS, 2006).

O método físico se constitui como uma medida simples a ser adotada pela população a fim de eliminar os criadouros (MARTINS; CASTIÑEIRAS, 2008). De acordo com Rangel (2008), a participação da comunidade frente à redução dos criadouros dos vetores é extremamente importante. Na maioria das vezes, a população possui a informação correta, mas suas práticas não condizem com o conhecimento do problema. Os meios de comunicação e as escolas devem trabalhar em cima dessas práticas habituais facilitadoras da proliferação do mosquito.

No Brasil, o controle químico ainda é um dos principais mecanismos de controle do vetor. Entre os principais problemas no uso indiscriminado desses inseticidas ao longo dos anos, destacam-se: o surgimento de insetos resistentes capazes de tolerar doses que normalmente causariam mortalidade aos insetos susceptíveis, levando ao aumento das doses e maior frequência de aplicação, além dos danos causados aos seres humanos e ao meio ambiente (DELÉCLUSE, 2000; CAMPOS, 2001; OLIVEIRA, 2002).

Uma das alternativas para se evitar os problemas ocasionados pelo uso dos inseticidas químicos se dá através do controle biológico, que se apresenta como uma opção econômica e ecologicamente viável. Entre esses produtos, estão os peixes larvófagos das espécies *Gambusia affinis* e *Poecilia* spp, crustáceos d'água doce do gênero *Mesocyclops* e *Macrocylops*, bactérias *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) e *Bacillus sphaericus* (Bsp) (POLANCZYK; GARCIA; ALVES, 2003; FERNÁNDEZ; PINEDA; FRANCOIS, 2011; GARCEZ *et al*, 2013).

Outras substâncias consideradas alternativas são os reguladores de crescimento de insetos IGRs (*Insetos Growth Regulators*) que atuam no desenvolvimento e na reprodução dos insetos, considerados inseticidas de terceira geração. Os IGRs mais utilizados no controle do vetor fazem parte do grupo das benzoil-fenil-uréias (BPU, inibidores da síntese de quitina) e dos compostos quimicamente relacionados ao hormônio juvenil natural de insetos, designados como

análogos de hormônio juvenil (AHJ) (FERNÁNDEZ; PINEDA; FRANCOIS, 2011; BORGES *et al*, 2012; GARCEZ *et al*, 2013).

Entre os inibidores da síntese de quitina comercializados, podemos citar o diflubenzuron recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como larvícida. Este produto inibe a síntese de quitina, impedindo a mudança do exoesqueleto em todos os estádios larvais de *Ae. aegypti*. Os AHJ atuam sobre o desenvolvimento dos insetos, interferindo no sistema endócrino. Entre os produtos pertencentes a esta classe estão o methoprene, pyriproxifen e fenoxicarb. A ação desses inseticidas tem mostrado eficiência, embora, o baixo efeito residual seja um ponto negativo no controle, ele possibilita a redução da resistência, entretanto, são vulneráveis a luz, sendo facilmente inativados (SENG *et al*, 2006; FONTOURA, 2008; FERNÁNDEZ; PINEDA; FRANCOIS, 2011; BORGES *et al*, 2012; GARCEZ *et al*, 2013).

Cada vez mais se torna necessária a busca por novas alternativas ambientalmente seguras, potencialmente adequadas e mais eficazes para uso em programas de combate à larva do *Ae. aegypti*. Uma das tendências atuais, neste sentido, são os estudos com produtos naturais de origem vegetal com propriedades larvicidas. Recentemente, óleos essenciais derivados de plantas têm recebido muito interesse como potenciais agentes bioativos (PITASAWAT *et al*, 2007; GARCEZ *et al*, 2013; FERREIRA *et al*, 2015).

## **2.5 ÓLEOS ESSENCIAIS**

### **2.5.1 Aspectos Gerais**

De acordo com Mouchrek (2000), o termo “óleo essencial” é empregado para designar líquidos oleosos voláteis, dotados de aroma forte e quase sempre agradável. São extraídos de partes de plantas por algum processo específico, sendo o mais frequente a destilação por arraste de vapor d’água. De forma geral, são misturas complexas de substâncias orgânicas voláteis, lipofílicas e instáveis na presença de fatores externos como o ar, umidade, luz, calor e metais (SIMÕES; SPITZER, 2004).

Os óleos essenciais se originam do metabolismo secundário das plantas e possuem uma composição química complexa. De acordo com Simões (2004), os

constituintes dos óleos variam desde hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos contendo enxofre. Estão presentes em diferentes concentrações, normalmente um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas concentrações “traços” (BAJPAI; RAHMAN; KANG, 2008; GOUNARIS, 2010).

A composição dos óleos essenciais é bastante variável. Óleos obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem apresentar composição química, características físico-químicas e odores bem distintos. Além disso, para uma mesma espécie de planta, o número de compostos, suas quantidades relativas e o rendimento de óleos essenciais podem variar significativamente, isto pode ser atribuído ao método de extração do óleo essencial e também aos fatores externos, como as condições climáticas, localização e fatores agrônômicos como fertilização, irrigação, época de coleta, ciclo vegetativo (BAKKALI *et al*, 2008).

Óleos essenciais são de fundamental importância para a sobrevivência do vegetal e apresentam várias ações, entre elas: impedem a perda excessiva de água da planta, seus componentes reagem como doadores de hidrogênio nas reações de oxidação-redução, na defesa contra herbívoros, micro-organismos e predadores, além de colaborar para atração de insetos e agentes fecundadores (SIANI *et al*, 2000).

Na terapêutica, os óleos essenciais e os terpenos isolados apresentam uma variedade de ações farmacológicas: ação larvícida (FERREIRA *et al*, 2015), atividade antioxidante (ANDRADE *et al*, 2012), fungicida (CRUZ *et al*, 2015), atividade antitumoral (SILVA *et al*, 2008), ação antimicrobiana (VALERIANO *et al*, 2012; BARBOSA *et al*, 2009), antiinflamatória (RODRIGUES, 2014), entre outras. As propriedades farmacológicas atribuídas são diversas e algumas são indicadas por apresentarem vantagens importantes quando comparadas a alguns medicamentos, como por exemplo, a sua volatilidade, que os torna ideal para uso em nebulizações, banhos de imersão ou simplesmente em inalações (BANDONI; CZEPAK, 2008).

### **2.5.2 Óleo essencial de *Syzygium aromaticum***

O cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) pertence à família das mirtáceas (*Myrtaceae*), é uma árvore de porte arbóreo podendo atingir de 12 a 15 m de altura

com um ciclo vegetativo de mais de cem anos. Nativa das ilhas Molucas (Arquipélago da Insulíndia, Indonésia), apresenta um odor fortemente aromático, sabor ardente e característico, folhas ovais grandes e flores de cor vermelha que se apresentam em numerosos grupos de cachos terminais (Figura 2) (ALMA *et al*, 2007; COSTA *et al*, 2011b).

**Figura 2**– Árvore, botões florais não abertos, botões secos.



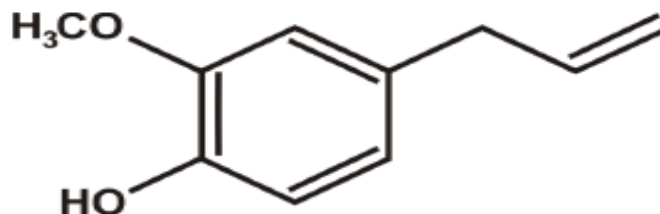
**Fonte:** CEPLAC (2009).

No Brasil, é produzida de forma comercial no sul da Bahia pelos municípios de Valença, Ituberá, Taperoá, Camamu e Nilo Peçanha e mais ao sudeste no município de Uma. A planta se adaptou muito bem a região, transformando o estado da Bahia no maior produtor do Brasil (OLIVEIRA *et al*, 2008). O cravo-da-índia utilizado na culinária são os botões florais (ainda não abertos) e secos (Figura 2). É usado principalmente como condimento devido ao seu marcante aroma e sabor, atribuído por um componente fenólico volátil, o eugenol (CRAVEIRO; QUEIROZ, 1993).

O eugenol (Figura 3) é um composto fenólico designado quimicamente como (4-Allyl-2-methoxyphenol), com fórmula molecular  $C_{10}H_{12}O_2$  e massa molar  $164,2 \text{ g.mol}^{-1}$ . Apresenta-se como um líquido incolor a amarelo claro (que escurece quando exposto a luz), volátil, com baixa solubilidade em água, cheiro forte e aromático de cravo, sabor ardente e picante (RABÊLO, 2010). É o componente majoritário do óleo essencial de *Syzygium aromaticum*, apresentando-se em 80-90% do total do óleo,

além de outros componentes em menores proporções como  $\beta$ -cariofileno, acetato de eugenila, ácido oleânico e substâncias das classes: triterpeno, ceras vegetais, cetonas, resinas, taninos e esteróis. (SILVESTRI *et al*, 2010; AFFONSO *et al*, 2012).

**Figura 3** – Estrutura química do Eugenol.



**Fonte:** LINARD (2008).

Entre as propriedades atribuídas ao eugenol estão: agente fungicida (RANASINGHE; JAYAWARDENA; ABEYWICKRAMA, 2002), dietas a base de cravo-da-índia podem ter efeitos benéficos para o tratamento da diabetes (PRASAD *et al*, 2005), atividade inibitória frente aos fungos *Candida* e *Aspergillus* (PINTO, 2008) e frente às bactérias *Vibrio spp.*, *Edwardsiella spp.*, *Aeromonas spp.*, *Escherichia coli.* e *Pseudomonas spp.* (LEE *et al*, 2009), ação antiinflamatória (BACHIEGA, 2011) e inseticida eficaz no combate a pulgões, ácaros e pragas de artrópodes (DAYAN, 2009).

O OESA apresenta uma intensa atividade larvívora frente ao *Ae. aegypti*. Nascimento (2012) ao avaliar a atividade larvívora do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* sobre as larvas do *Ae. aegypti*, obteve uma CL<sub>50</sub> de 63,36 ppm para o OESA, enquanto o seu componente majoritário eugenol apresentou CL<sub>50</sub> de 79,39 ppm. Já Simas *et al* (2005) encontraram uma CL<sub>50</sub> de 44,5 para o eugenol contra as larvas do *Ae. aegypti*.

De acordo com Lahlou (2004), a atividade biológica dos óleos essenciais está diretamente ligada à sua composição química. Essa relação de composição e atividade, muitas vezes, sugere que a atividade biológica de um óleo pode ser atribuída tanto aos seus componentes majoritários, quanto a componentes presentes em menor concentração. É possível que eles ajam em conjunto sinergicamente.

O OESA, assim como todo óleo essencial, também apresenta limitações, como instabilidade a aquecimento, ar, umidade, luz, além de ser insolúvel em água

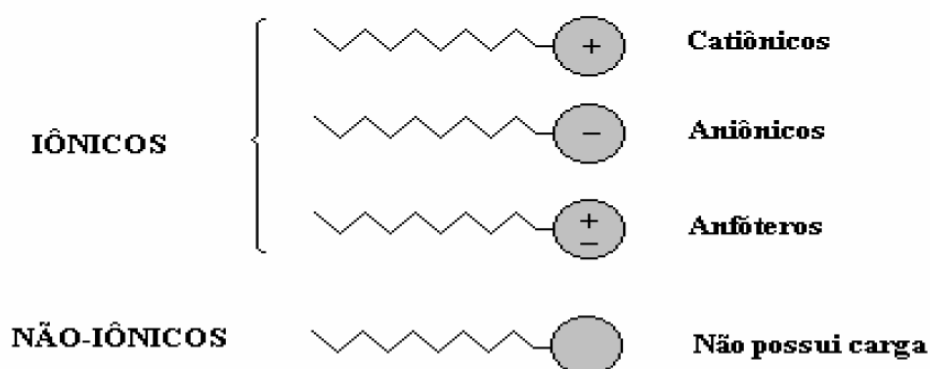
(LIU *et al*,2012). Devido a estas características, estudos apontam para os sistemas de liberação como uma alternativa de viabilizar o uso de OEs, como complexos de inclusão com ciclodextrinas (HILL; GOMES; TAYLOR, 2013), microencapsulação (PEREIRA, 2007), nanocompósitos (SANTOS, 2014) e sistemas estabilizados por tensoativos ( FERREIRA *et al*, 2014), entre outros.

## 2.6 SISTEMAS FORMADOS POR TENSOATIVOS

### 2.6.1 Tensoativos

Os tensoativos fazem parte de um grupo de moléculas anfifílicas, com estruturas distintas, que possuem uma parte hidrofílica (polar) e outra hidrofóbica (apolar). São substâncias que, por conta de sua estrutura e propriedades, possuem a capacidade de diminuir as tensões interfaciais e superficiais dos sistemas (ATWOOD, 1983). A classificação mais comum dos tensoativos é através da natureza do grupamento hidrofílico. Eles podem ser iônicos (aniônicos, catiônicos e anfóteros, também chamado de zwitteriônicos) e não iônicos (ROSSI *et al*, 2006).

**Figura 4** – Representação esquemática dos tensoativos



**Fonte:** SILVA (2008).

Quando adicionados à água, atuam como monômeros e tendem a se posicionar na interface água-ar, de forma que o grupo hidrofóbico estará posicionado em direção ao ar e o grupamento hidrofílico em contato com a água, alcançando desta forma um estado mínimo de energia livre do sistema. À medida que se aumenta a concentração de tensoativo no meio a interface água-ar tenderá a



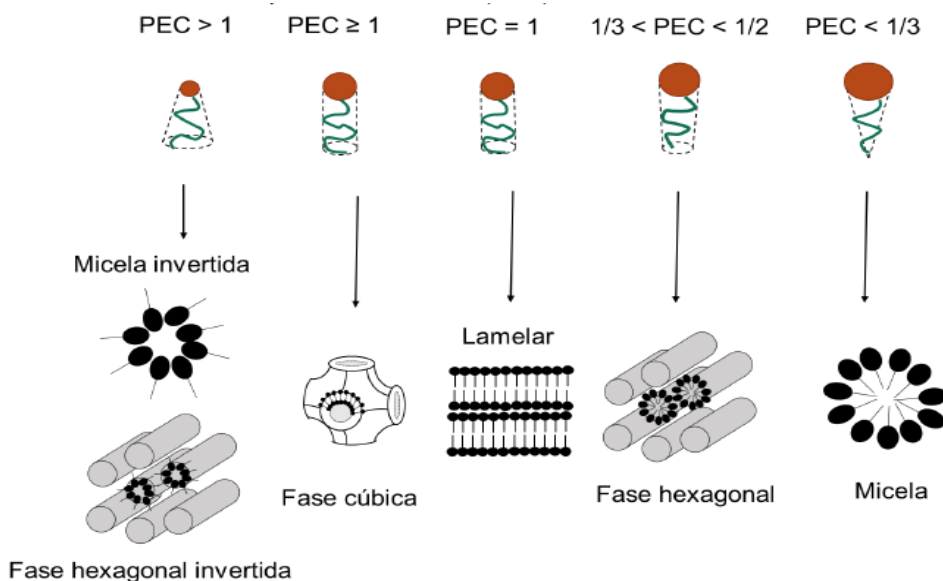
saturação por moléculas de tensoativo. Ao atingir uma concentração em que a interface esteja saturada, as moléculas no centro do líquido, para manter um estado mínimo de energia livre, se auto-associam formando estruturas coloidais denominadas micelas. Essa concentração, por sua vez, é denominada concentração micelar crítica (CMC) (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; SATO, 2011).

A CMC é um dos parâmetros mais importantes para determinar a concentração adequada do tensoativo que será utilizado (TADROS, 2005). A redução ou o aumento da concentração do tensoativo e do solvente favorece a formação de diferentes estruturas de escala macroscópica e microscópica, tais como as microemulsões, cristais líquidos e emulsões (Figura 5) (LAWRENCE; REES, 2012). Para entender a formação dessas estruturas, dois parâmetros relativos aos tensoativos devem ser levados em consideração, o Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) e o Parâmetro de Empacotamento Crítico (PEC).

Os tensoativos também são classificados de acordo com seu equilíbrio entre as partes hidrofílicas e lipofílicas das moléculas, numerado com um determinado valor do equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL). Substâncias de EHL menor que três, são lipofílicas, apresentando apenas propriedades antiespumantes. EHL entre três e nove propriedades emulsificantes dando origem a emulsões do tipo A/O. EHL entre oito e dezesseis começam a apresentar características hidrofílicas dando origem a emulsões do tipo O/Ae EHL acima de dezesseis apresentam características hidrofílicas, atuando como solubilizantes (PRISTA *et al*, 1990).

O PEC é utilizado para entender qual tipo de estrutura do tensoativo é preferencial para formar determinado sistema, sendo definido como  $PEC = v / a.l$ , consiste na relação entre o volume da cauda hidrofóbica (v), o volume da área de cabeça polar (A) e o comprimento da cauda hidrofóbica (l) (MALMSTEN, 2002). Uma vez especificado o valor desse parâmetro, é possível determinar os tipos de agregados nos quais ele poderá se organizar (LAWRENCE; REES, 2012).

**Figura 5** – Formação de estruturas líquido-cristalinas baseada no Parâmetro de Empacotamento Crítico (PEC) do tensoativo.



Fonte: MEZZENGA (2012).

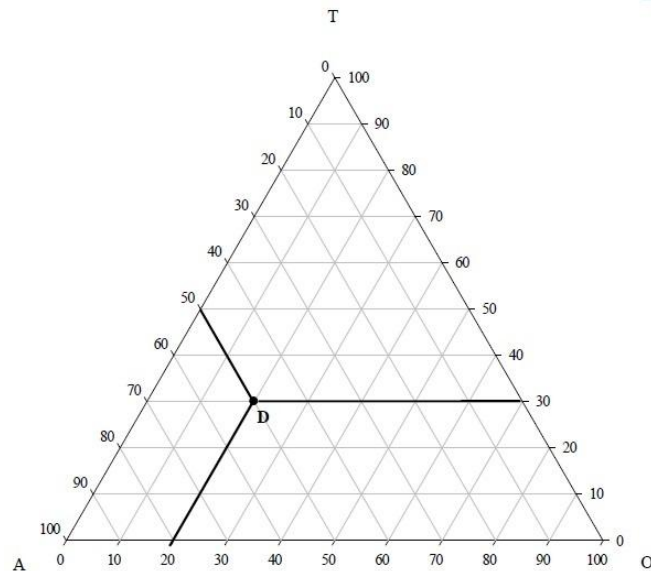
## 2.6.2 Diagramas de Fases

A construção do diagrama de fases é de fundamental importância na obtenção de sistemas nanoestruturados (BOONME *et al*, 2006; CORREA *et al*, 2005). A existência de diferentes tipos de agregados se deve ao comportamento termodinâmico apresentado pelas diferentes combinações dos componentes dos sistemas, os diagramas são ferramentas utilizadas na avaliação do comportamento de fases dos sistemas formados (CARVALHO, 2009b). Sua forma geral é de triângulo equilátero, onde cada vértice corresponde aos 100% de cada componente, sendo o vértice superior correspondente ao tensoativo, o vértice esquerdo a fase aquosa e o direito correspondente a fase oleosa (RISSI, 2013).

No interior do triângulo, o comportamento termodinâmico é descrito delimitando-se as regiões em que ocorre a formação dos sistemas homogêneos de característica isotrópica (sistemas micelares e/ou microemulsionados), anisotrópica (cristais líquidos de fase lamelar e hexagonal) e sistemas emulsionados (RISSI, 2013). Estes diagramas possibilitam a visualização simultânea entre a quantidade relativa dos constituintes e o decorrente comportamento físico-químico do sistema obtido. Através deles, os pesquisadores podem escolher sistemas com viscosidade

e características apropriadas aos seus propósitos (GUSTAFSSON *et al*, 1997; OLIVEIRA *et al*, 2004).

**Figura 6** – Representação esquemática de um diagrama de fases ternário.



**Fonte:** OLIVEIRA (2013)

**Nota:** O ponto D apresenta 50% de Água, 20% de Óleo e 30% de Tensoativo.

### 2.6.3 Microemulsões

As microemulsões (MEs) são definidas como dispersões coloidais de água e óleo, estabilizadas por uma molécula anfifílica e por um co-tensoativo quando necessário, formando um sistema termodinamicamente estável. Comumente, são denominados como agregados esféricos com diâmetro muito pequeno, na faixa de 5 a 140 nm, enquanto que o diâmetro das gotículas de uma emulsão é da ordem de 0,1  $\mu\text{m}$  a 100  $\mu\text{m}$ . Possuem um diâmetro de partícula menor que  $\frac{1}{4}$  do comprimento de onda da luz incidente e, portanto, não espalham luz o que explica porque as MEs são sistemas opticamente transparentes (LAWRENCE; REES, 2012; KREILGAARD, 2002).

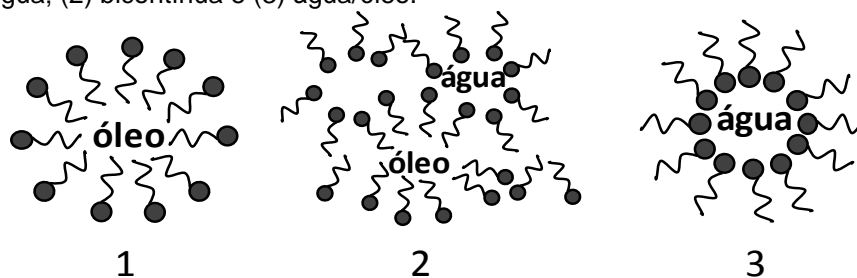
São capazes de solubilizar tanto compostos hidrofílicos como lipofílicos e formam-se espontaneamente com a mistura, em proporções adequadas de seus componentes, sem a necessidade de utilização de equipamentos sofisticados. Além disso, possuem grande área superficial, baixa tensão interfacial e baixa viscosidade (SOLANS; KUNIEDA, 1997; CUNHA JÚNIOR *et al*, 2003).

Sua estabilidade termodinâmica oferece vantagens sobre as dispersões instáveis, tais como as suspensões e emulsões, possuindo tempo de vida útil muito mais amplo (FORMARIZ *et al*, 2005). As diferenças importantes entre as emulsões e as MEs são que as primeiras devem apresentar excelente estabilidade física do ponto de vista farmacêutico, mas são fundamentalmente instáveis termodinamicamente e, eventualmente, separam fases (NARANG; DELMARRE; GAO, 2007; LAWRENCE; REES, 2012). Além disso, quanto à aparência, as emulsões são opacas enquanto que MEs são transparentes (LAWRENCE; REES, 2012; NARANG; DELMARRE; GAO, 2007).

As MEs podem ser classificadas em três tipos: água-óleo (A/O), óleo-água (O/A) e bicontínuas (Figura 7). Nas MEs A/O as nanogotículas de água estão dispersas em uma fase contínua de óleo estabilizada por um filme ou monocamada de tensoativo e na maioria dos casos um co-tensoativo é utilizado. Ao contrário ocorre nas MEs O/A, em que as nanogotículas de óleo estão dispersas em uma fase contínua de água, e as moléculas de tensoativo e cotensoativo estão arranjadas de tal forma que o grupo polar se encontra posicionado na superfície das gotículas, direcionado para água (DAMASCENO *et al*, 2011).

Entre esses dois tipos de MEs, ocorre a formação de uma estrutura não esférica conhecida como microemulsões bicontínuas (LAWRENCE; REES, 2012). Essa formação pode ser observada por três mecanismos: (1) quando se aumenta gradativamente, por titulação, o volume da fase interna dos sistemas; (2) durante a migração de O/A para A/O ou de A/O para O/A; e (3) quando o volume das duas fases está próximo (TENJARLA, 1999; KREILGAARD, 2002).

**Figura 7** – Representação esquemática dos três tipos de ME mais comumente encontradas: (1) óleo/água; (2) bicontínua e (3) água/óleo.



Fonte: CUNHA JÚNIOR *et al* (2003).

## 2.6.4 Cristais Líquidos

Os cristais líquidos (CLs) são conhecidos desde 1889, quando Lehmann descreveu um estado intermediário na transformação térmica a partir do estado sólido para o líquido. Em 1922, o termo “estado mesomórfico” (*mesos* – intermediário e *morphé* – forma) foi utilizado por Friedel para definir este quarto estado da matéria. Os CLs então passaram a ser chamados de fases mesomórficas ou mesofases líquido-cristalinas (MORAIS, 2006).

Esta fase intermediária pertence a um estado de matéria com propriedades entre um sólido cristalino e um líquido isotrópico, por possuírem ordem estrutural, rigidez e ligações definidas como a dos sólidos e mobilidade, regiões desordenadas e fluidas como a dos líquidos, ou seja, possuem propriedades mecânicas típicas do estado líquido e certa ordem molecular, constituindo assim uma fase fluida e ordenada (HYDE, 2001; ROSSETTI *et al*, 2011).

Estão divididos em duas classes, de acordo com os parâmetros mais relevantes nas transições de fase: cristais líquidos termotrópicos (CLTs) e cristais líquidos liotrópicos (CLL). Os CLTs são geralmente constituídos de um único componente sendo este uma molécula orgânica e anisotrópica, formando uma solução pura. Podem ser classificados em nemáticos, esméticos e colestéricos, e somente a temperatura é a responsável pela transição entre uma fase e outra. São utilizados em aplicações tecnológicas, como na fabricação de dispositivo eletro-ópticos e sensores de temperatura e pressão (LAGERWALL; SCALIA, 2012).

Os CLLs são geralmente formados por substâncias anfífilas (tensoativos) tratadas por um solvente, na maioria das vezes, a água. As mesofases liotrópicas podem ser consideradas micelas ordenadas com arranjo molecular caracterizado por regiões hidrofóbicas e hidrofílicas alternadas. A formação desse tipo de cristal depende da composição do sistema, presença de sais, de óleos e de co-tensoativos, assim como da temperatura, concentração e geometria do tensoativo. As mesofases liotrópicas mais importantes são: fases lamelares, hexagonais e cúbicas (Figura 8) (FORMARIZ *et al*, 2005; MORAIS, 2006; CHORILLI *et al*, 2009; ALAM; ARAMAKI, 2014).

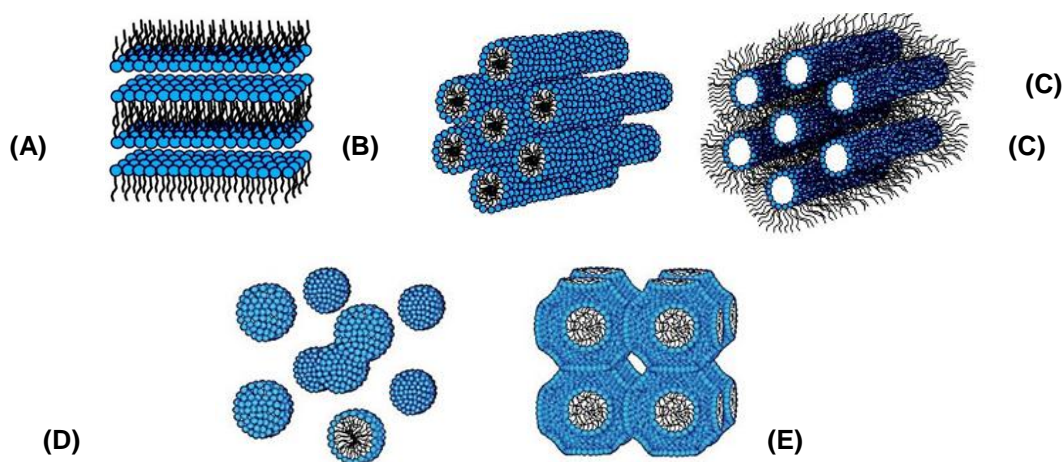
A mesofase Lamelar (Figura 8) se caracteriza por intercalar camadas paralelas e planas de bicamadas de tensoativos separadas por camadas de solventes, onde os grupamentos polares das moléculas estão juntos a fase aquosa,

enquanto as caudas hidrocarbonadas estão localizadas paralelamente, formando uma estrutura unidimensional. Essa fase se caracteriza por sua fluidez e anisotropia na forma de cruz de malta (FORMARIZ, *et al*, 2005; WANG; ZHOU, 2009).

Na fase Hexagonal (Figura 8), os agregados são formados por longas estruturas cilíndricas, originando estruturas bidimensionais. Podem ser classificadas em fase hexagonal reversa, formada por canais aquosos circundados pelas cabeças polares do tensoativo, com a porção apolar localizada ao redor dos cilindros, e fase hexagonal normal, nas quais as cabeças polares do tensoativo se localizam na região externa dos cilindros. A fase hexagonal se apresenta anisotrópica ao campo de luz polarizada, com estruturas estriadas e possui menor viscosidade em relação à fase cúbica (YARAV *et al*, 2010).

A mesofase cúbica (Figura 8) apresenta estruturas mais organizadas e de difícil visualização, possuem uma alta viscosidade e são termodinamicamente estáveis na presença de excesso de água. Não apresenta birrefringência quando observada em microscopia de luz polarizada como as fases lamelar e hexagonal. Há dois tipos de fase cúbica, fase cúbica bicontínua que consiste em um domínio contínuo de água se dividindo em duas bicamadas contínuas de tensoativo, e fase cúbica micelar ou fase cúbica de corpo centrado que consiste em micelas de tensoativo arranjadas em uma estrutura cúbica separadas por uma fase polar contínua (WANG *et al*, 2006; GUO *et al*, 2010).

**Figura 8** – Representação esquemática das fases líquido cristalinas: (A) lamelar, (B) Hexagonal normal, (C) hexagonal invertida, (D) cúbica de corpo centrado e (E) cúbica bicontínua.



**Fonte:** FERREIRA (2015b).

Nas últimas décadas, sistemas líquido-cristalinos têm atraído grande atenção, devido as suas aplicações em diversas áreas. Essas estruturas oferecem diversas vantagens: promovem liberação controlada de substâncias ativas, protegem substâncias incorporadas em suas matrizes da degradação térmica ou fotodegradação, sendo utilizados como excipientes para proteger óleos, vitaminas e antioxidantes (BOYD *et al*, 2006; MORAIS *et al*, 2008).

Contudo, a alta viscosidade das mesofases liotrópicas pode dificultar o manuseio e a administração desses sistemas. Por isso, diversos trabalhos têm proposto inicialmente a obtenção de fase cristalina com baixa viscosidade, de fácil preparo e administração, um sistema precursor de cristal líquido. A aplicação desse sistema leva a formação de uma mesofase com alta viscosidade após o contato com o meio desejado e estímulos específicos (SHAH; SADHALE; CHILUKURI, 2001; MALMSTEN, 2007; BRUSCHI *et al*, 2007).

#### **2.6.5 Precursores de Fase**

São sistemas sensíveis a estímulo, que apresentam transição de fase em resposta a algum estímulo físico ou químico, como alteração na temperatura, pH, força iônica, conteúdo aquoso, entre outros (WEI *et al*, 2002). Esses sistemas são utilizados quando a fase desejada apresentar alguma limitação quanto ao seu uso convencional, como dificuldade de aplicação (CARVALHO *et al*, 2013; REN *et al*, 2012). A literatura se refere a esses sistemas como precursores de cristais líquidos, possuem um auto grau de organização e podem ser projetados para serem formados *in situ* após sua administração (MALMSTEN, 2002; BOYD *et al*, 2006).

Em estudo realizado por Goymann e Hamann em 1993, eles observaram que soluções micelares reversas utilizadas como veículo para o fármaco lidocaína, sofreram transição de fase para um sistema de CL após entrar em contato com água, demonstrando uma taxa de liberação prolongada e abordando pela primeira vez o conceito de transição de fase *in situ*. Diversos autores reportam que estruturas líquido-cristalinas apresentam baixas velocidades de liberação de fármacos, uma vez que os CLs possuem microestruturas altamente organizadas e alta viscosidade (GOYMANN; HAMANN, 1993; TROTTA *et al*, 1995).

Na literatura, são citadas diversas vias para administração das mesofases líquida cristalina: oral, retal, subcutânea, bucal, nasal, transdérmica (MIYAZAKI *et al*,

1986; WYATT; DORSCHER, 1992; CARR *et al*, 1997; BRINON *et al*, 1999; LEE; KELLAWAY, 2000; URBAN, 2004). Em alguns casos, a alta viscosidade dos cristais líquidos, pode dificultar sua aplicação através de algumas vias, por ser difícil a administração de formulações muito rígidas. Essa transição de fase *in situ* de sistemas líquidos para mesofases de maior viscosidade são extremamente importantes para o delineamento dos CLs como sistemas de liberação (MALMSTEN, 2007; ZHENG *et al*, 2011; CARVALHO *et al*, 2013).

Sistemas precursores de cristais líquidos formados a partir de Procetyl, ácido oléico, óleo essencial de *Citrus sinensis* e água foram obtidos por Ferreira et al (2015) propostos como veículos para liberação do óleo essencial de *Citrus sinensis*, agindo como uma alternativa biotecnológica no controle do vetor *Ae. aegypti*. Os sistemas com menor conteúdo aquoso apresentaram-se como sistemas líquidos isotrópicos. Com o aumento da fase aquosa, esses sistemas apresentaram um maior grau de estruturação, transformando-se em sistemas líquido cristalinos. Através dos precursores de fase, o autor obteve uma CL<sub>50</sub> no valor de 5,93 ppm e 6,55ppm, valor três vezes mais baixo em relação ao óleo puro. Demonstrando assim, o potencial uso desses sistemas no controle larvicida do *Ae. aegypti*.

Neste sentido, a fim de aumentar a resistência do nosso sistema, foi utilizado o polímero alginato de sódio. Em trabalho anterior, realizado por nosso grupo de pesquisa, sistemas precursores de fase cristalina foram obtidos, porém apresentaram fragilidade em resistir ao intumescimento. Desta maneira, com a utilização do alginato de sódio, espera-se um aumento na resistência do sistema ao intumescimento, permanecendo estruturado por mais tempo, favorecendo um efeito residual do OESA no meio aquoso.

## 2.7 POLÍMEROS

Polímeros são macromoléculas naturais ou sintéticas de elevada massa molecular que resultam da repetição de monômeros. Representam uma das classes de materiais mais versáteis disponíveis para aplicações em diversas áreas. Neste contexto, destacam-se os polímeros naturais como os polissacarídeos, a exemplo do alginato ou ácido algínico (SINKO, 2008; CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009).

O ácido algínico é um polímero linear, composto por ligações 1-4 de ácido  $\beta$ -D-manurônico (M) e ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (G), de larga variação na composição e



estrutura sequencial (KING, 1983; MOE *et al*, 1995). O referido ácido está presente na parede celular e nos espaços intercelulares de várias espécies de algas marinhas marrons (classe *Phaeophyceae*) usualmente na forma de um sal misto de cálcio, magnésio, sódio e potássio (COTTRELL *et al*, 1980; DUTTON, 1988; ONSOYEN, 1999). Também pode ser obtido por fermentação utilizando bactérias como *Pseudomonas* e *Azotobacter* (CRUZ; FOGGETTI; SILVA, 2008).

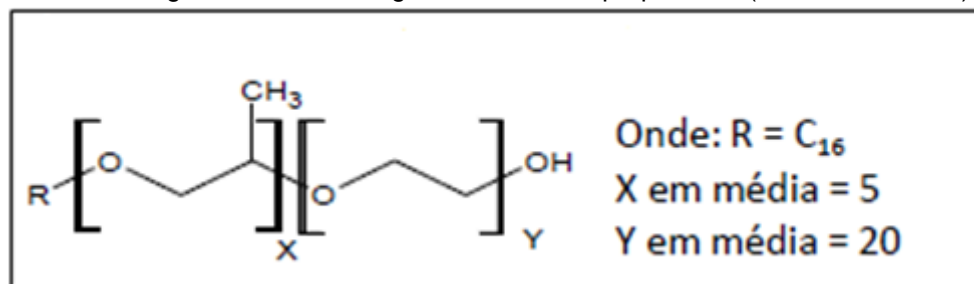
Os alginatos, sais do ácido algínico, são polissacarídeos usados freqüentemente em vários setores industriais por suas propriedades coloidais espessantes, emulsificantes, estabilizantes e gelificantes, além de ser biocompatível e não tóxico (ERTESVÁG; VALLA, 1998).

## 2.8 COMPONENTES DO SISTEMA

Um grande desafio associado ao desenvolvimento de sistemas estabilizados por tensoativos é selecionar os componentes adequados à formulação. As características físico-químicas e as proporções dos componentes são fatores fundamentais na formulação desses sistemas. Esta seleção deve ser feita de forma cuidadosa, levando-se em conta parâmetros como irritabilidade, potencial tóxico, capacidade de solubilização dos princípios ativos que podem ser incorporados, bem como a capacidade de formar os sistemas desejados (KREILGAARD, 2002; LAWRENCE, 2012).

Os tensoativos não iônicos geralmente apresentam CMC menor que os tensoativos ionicamente carregados e por isso são menos irritantes e mais tolerados (MALMSTEN, 2002). O tensoativo utilizado neste trabalho foi do tipo álcool graxo etoxilado epropoxilado, cuja fórmula geral está na Figura 9, de nome INCI PPG-5-Ceteth-20 e nome comercial Procetyl AWS®. Apresenta-se como um líquido incolor, odor leve característico, possui EHL=16, pH (sol. aquosa 3%, 25°C) = 5,5-7,5, densidade relativa = 1,050, solúvel em água e etanol. Possui excelente propriedade emoliente, são utilizados em cosméticos como emulsionante, agente molhante, solubilizante e plasticizante (CRODA, 2002).

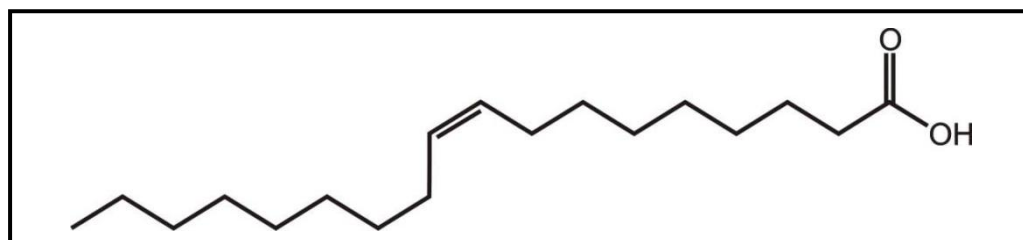
**Figura 9** – Fórmula geral de um álcool graxo etoxilado e propoxilado (PPG-5-Ceteth 20).



Fonte: RISSI (2013).

O ácido oleico (Figura 10) é um ácido graxo monoinsaturado, obtido pela hidrólise de óleos vegetal e animal. Bastante utilizado como aditivo em bases de sabões e sabonetes além de cremes e emulsões cosméticas pelas suas propriedades emolientes e para recompor a oleosidade em peles ressecadas e com problemas de escamação. Apresenta-se como um líquido incolor ou levemente amarelado, insolúvel em água e na presença de ar, oxida-se e adquire coloração amarela e odor rançoso. Utilizado nesse estudo como co-tensoativo (KLEN, 2007).

**Figura 10** – Estrutura Química do Ácido oleico.



Fonte: Ferreira (2014).

## 2.9 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

### 2.9.1 Microscopia de Luz Polarizada (MLP)

A microscopia de luz polarizada (MLP) está entre as técnicas mais utilizadas na identificação dos CLs, pois permite avaliar o comportamento óptico dos sistemas. De acordo com o efeito que causa sob um plano de luz polarizada uma substância pode ser classificada como anisotrópico ou isotrópico, diferenciando microscopicamente os tipos de estruturas formadas (ABRAMOWITZ *et al*, 2005; CHORILLI *et al*, 2009).

Os sistemas capazes de desviar o plano de luz incidente são ditos anisotrópicos, interagem com a luz de maneira que é dependente da sua orientação. Para esses sistemas, imagens características do tipo de fase formada são obtidas, os CLs hexagonal apresentam textura tipo leque ou uma forma estriada típica que o diferencia da fase lamelar, esta se apresenta como cordões ou tipo mosaico, mas também pode apresentar-se com várias camadas (lamelas) sobrepostas, formando estruturas denominadas “cruzes-de-malta” (HYDE, 2001; GOYMANN, 2004; ZHENG *et al*, 2011).

A substância é dita isotrópica quando permite a passagem da luz polarizada sem desviar sua propagação. Desse modo, não interagem com a luz e apresentando-se como campo escuro, apenas sendo detectado através de outras técnicas de análise, como espalhamento de raios X de baixo ângulo (SAXS). Exemplo desses sistemas são os micelares, as microemulsões e CLs de fase cúbica (CARLTON, 2001; HYDE, 2001; GOYMANN, 2004).

### 2.9.2 Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS)

A técnica de espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS) é bastante utilizada na caracterização estrutural detalhada de diversos sistemas nanoestruturados. Fornece informações sobre a estrutura de objetos espalhadores mesmo que eles não estejam organizados de forma ordenada. Avalia o tamanho médio e a distancia entre os objetos como gotículas, micelas ou estruturas cristalinas, bem como as interações existentes entre eles (PEDERSEN, 1999; FRANZINI, 2006; CARVALHO, 2009).

Em um sistema concentrado, a intensidade espalhada por um conjunto de N partículas pode ser calculada pela equação abaixo, onde  $I(q)$  é a intensidade resultante, N é número de objetos espalhadores,  $P(q)$  é o fator de forma e  $S(q)$  é o fator da estrutura do conjunto. Logo, se as partículas estão correlacionadas,  $S(q)$  caracteriza o arranjo, além de conter todas as informações sobre as interações entre as partículas. Várias formas podem ser admitidas por  $S(q)$ , de acordo com o arranjo das entidades espalhadoras (LECOMTE, 1988).

$$I(q) = N.P(q).S(q) \text{ Equação 1}$$

Nos sistemas diluídos, em que as partículas estão isoladas uma das outras e não interagem entre si, sua intensidade espalhada  $I(q)$  é descrita somente pelo fator de forma  $P(q)$  das diferentes partículas (GUINIER, 1964; FRANZINI, 2006). A distância média ( $d$ ) entre as partículas, sejam elas gotículas ou planos vizinhos, pode ser deduzida a partir do valor da posição do vetor de espalhamento quando a intensidade é máxima ( $q_{max}$ ), empregando a relação:

$$d = \frac{2\pi}{q_{max}} \text{Equação 2}$$

Em sistemas do tipo micelas e microemulsões, as curvas de SAXS apresentam um pico amplo, associado com a baixa correlação espacial 3D. Sistemas cristalinos que apresentem orientação aleatória são capazes de agregar formando domínios e exibindo estruturas uni, bi e tridimensionais. A intensidade  $I(q)$  produzida apresenta forma máxima (ou picos de Bragg) para valores específicos do vetor de espalhamento  $q$ . Caso a curva de espalhamento apresente vários picos, suas posições no eixo  $q$  mostram o tipo de estrutura cristalina formada, além de permitir calcular parâmetros estruturais (BEAUCAGE, 1995).

A estrutura dos cristais líquidos liotrópicos pode ser verificada de acordo com a posição dos picos de difração no eixo do vetor de espalhamento  $q$ . Para cristais do tipo lamelar, a posição relativa dos picos em relação ao primeiro pico, mais intenso, deve obedecer à relação 1: 2: 3, enquanto que, para estruturas hexagonais a relação é de 1:  $\sqrt{3}$ : 2:  $\sqrt{7}$ . E para cristais líquidos de fase cúbica, a relação é 1,41: 1,73: 2,82: 3 (HOLMQVIST; ALEXANDRIDIS; LINDMAN, 1997; FORMARIZ *et al*, 2007; YARIV *et al*, 2010).

### 2.9.3 Reologia

O conceito de Reologia foi proposto por Bingham em 1929, que consiste na ciência que estuda as propriedades e o comportamento mecânico de corpos que sofrem uma deformação (sólidos elásticos) ou um escoamento (fluido: líquido ou gás) quando submetidos a uma tensão (SHAW, 1975; WOOD, 1986). A partir das propriedades reológicas podem ser obtidas informações sobre a estrutura de um

material bem como o seu comportamento durante um determinado processo (SHAW, 1975).

Nos sólidos, a propriedade de interesse é a elasticidade e nos líquidos, a viscosidade ( $\eta$ ), porém, alguns materiais não podem ser diferenciados em sólidos ou líquidos com clareza, e neste caso, a propriedade reológica de interesse é a viscoelasticidade (SHAW, 1975; PASQUEL, 1999; RAO, 1999).

Quanto maior a viscosidade de um fluido, maior a força de atrito e mais energia será necessária para que ocorra o cisalhamento, este ocorre sempre que o fluido é fisicamente movido ou distribuído, como no escoamento, espalhamento, aspersão, mistura, entre outros aspectos (LEWIS, 1993; MOTT, 1996).

$$\eta = \frac{\sigma}{\gamma} \text{ Equação 3}$$

Onde  $\eta$  é a viscosidade em Pa.s,

$\sigma$  Corresponde à tensão de cisalhamento (Pa) e

$\gamma$  Taxa de cisalhamento ( $s^{-1}$ ).

A correlação entre a taxa de cisalhamento e a tensão de cisalhamento define o comportamento reológico de um fluido. Os fluidos podem ser classificados em: newtonianos e não newtonianos. Os fluidos newtonianos seguem a lei de Newton, expressa na Equação 4. Esses fluidos apresentam uma tensão de cisalhamento diretamente proporcional à taxa de cisalhamento e assim apresentam viscosidade constante (SCHRAMM, 2006).

$$\sigma = \eta\gamma \text{ Equação 4}$$

Os fluidos não newtonianos não apresentam uma relação linear entre a tensão e a taxa de cisalhamento. Por conseguinte, a viscosidade mudará com a variação nos valores da taxa de cisalhamento (WOOD, 1986). Estes fluidos estão divididos em três grupos, classificados conforme seu comportamento: Fluidos não-Newtonianos independentes do tempo; fluidos não-Newtonianos dependentes do tempo e fluidos viscoelásticos. Os independentes do tempo são pseudoplásticos (diminui a viscosidade com a taxa de cisalhamento), dilatantes (aumenta viscosidade

como taxa de cisalhamento) e plásticos (diminui a viscosidade com a taxa de cisalhamento após atingir uma tensão mínima para o cisalhamento) (SCHRAMM, 2006; LAHOUD; CAMPOS, 2010).

O comportamento dos fluidos é descrito por meio dos modelos reológicos, relacionando tensão de cisalhamento com a taxa de deformação. O modelo mais simples é o newtoniano, que apresenta uma relação linear entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação. Existem muitos modelos reológicos, no entanto, a escolha do modelo a ser utilizado é uma função das características do fluido (TABILO-MUNIZAGA & BARBOSA-CÁNOVAS, 2005; RAO, 1999).

Os modelos mais comumente utilizados são: Ostwald-deWaele, Plástico de Bingham, Hershel-Bulkley e Casson. Sendo o modelo de Ostwald-de Waele, também conhecido como Lei da Potência (Equação 5) um dos modelos mais utilizados para descrever o comportamento reológico de fluidos por conta da sua fácil aplicação. A avaliação do parâmetro  $n$  da Equação 5 define o comportamento do fluido em newtoniano ou não newtoniano. Quando  $n=1$  o sistema é considerado newtoniano,  $n < 1$  pseudoplástico,  $n > 1$  dilatante. Para o sistema plástico outro modelo apropriado é utilizado, modelo de Herschell Buckley, que leva em consideração a tensão mínima crítica de escoamento (STEFFE, 1996).

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \text{ Equação 5}$$

Os fluidos dependentes do tempo são os tixotrópicos (os quais a viscosidade aparente diminui com o tempo de cisalhamento) e reopéticos (exibe o comportamento oposto, a viscosidade aparente aumenta com o tempo de cisalhamento). Os viscoelásticos (apresentam características tanto de sólidos como de líquidos e exibem uma recuperação elástica parcial após a deformação) (SCHRAMM, 2006).

Para determinação do comportamento dos sistemas líquidos cristalinos, é necessária a realização de uma varredura de frequência, com o objetivo de se determinar a região viscoelástica. Nesta região, a estrutura do gel é preservada, ou seja, os módulos de armazenamento ( $G'$ ) e de perda ( $G''$ ) são independentes da frequência (GOSENCA *et al*, 2013).

O módulo de armazenamento ( $G'$ ) é a habilidade do material de armazenar energia. Enquanto que o módulo de perda ( $G''$ ) é a habilidade do material de dissipar energia (SCHRAMM, 2006). Quando  $G' > G''$ , o material irá se comportar mais como um sólido, isto é, as deformações serão essencialmente elásticas ou recuperáveis. Se  $G'' > G'$ , a energia utilizada para deformar o material é dissipada viscosamente e o material se comportará como um líquido viscoso. Se  $G'' = G'$ , o material está na transição (CRUZ *et al*, 2008b).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Desenvolver e caracterizar sistemas nanoestruturados a partir da utilização de PPG-5 CETETH-20 (Álcool cetílico propoxilado 5 OP etoxilado 20 OE), água, alginato de sódio e óleo essencial de *Syzygium aromaticum* com potencial aplicação no controle larvícida do *Ae. aegypti*.

#### 3.2. ESPECÍFICOS

- Extrair e caracterizar o óleo essencial de *Syzygium aromaticum*.
- Obter precursores de fase líquido-cristalinas e cristais líquidos a partir da construção do diagrama de fases pseudoternário, contendo o OESA;
- Caracterizar os sistemas obtidos através das técnicas de microscopia de luz polarizada, SAXS e reologia.
- Incorporar o alginato de sódio na estrutura dos precursores de fase e avaliar sua influência na estrutura do sistema;
- Caracterizar o sistema obtido após a adição do polímero;
- Avaliar a atividade larvícida das formulações selecionadas contra larvas do *Aedes aegypti*.



## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAL

#### 4.1.1 Reagentes e Solventes

- Ácido oléico (SIGMA ®);
- PPG-5 CETETH-20 (Procetyl AWS ®);
- Óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (OESA);
- Água deionizada Mili-Q (MEGAPURITY®);
- Alginato de Sódio (DINÂMICA®)

#### 4.1.2 Equipamentos

- Agitador Magnético (FISATOM®);
- Balança Analítica (DENVER® APX 200);
- Clevenger modificado;
- Microscópio de luz polarizada (Olympus modelo BX51);
- Reômetro Anton Paar (MCR – 302);
- Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas, (Shimadzu QP 5050 A);

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Extração e Caracterização do óleo essencial de *Syzygium aromaticum*

##### 4.2.1.1 Extração do óleo essencial

O óleo essencial foi obtido dos botões florais secos do *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia), em um único lote. No processo de extração foram utilizados 200 g de cravos da Índia os quais foram triturados em liquidificador comum para aumentar a eficiência da extração e levados a um aparelho extrator do tipo Clevenger modificado, por um período de 4 horas a temperaturas abaixo de 60°C. Foram utilizados dois litros de água destilada misturados aos cravos triturados e destilados no balão volumétrico acoplado ao aparelho. Traços de água foram removidos com a adição de sulfato de sódio anidro. O óleo foi acondicionado em frasco âmbar e

armazenado sob refrigeração. Os cravos foram adquiridos no mercado municipal Albano Franco no centro de Aracaju, Sergipe.

#### *4.2.1.2 Determinação da densidade do óleo essencial*

A densidade do óleo foi determinada pelo método do picnômetro. Um picnômetro de 3 mL foi calibrado com água destilada a 20°C. O óleo foi colocado no picnômetro e pesado após o ajuste da temperatura. O resultado foi obtido pelo quociente entre a massa obtida do óleo dividida pela massa obtida da água, segundo estabelecido na Farmacopeia Brasileira (2010).

#### *4.2.1.3 Identificação dos Constituintes químicos do óleo essencial*

A análise qualitativa da composição química do óleo essencial foi realizada utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas CG/EM/DIC (GCMSQP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com um amostrador com injeção automática AOC-20i (Shimadzu) e coluna capilar de sílica fundida Rtx®-5MS Restek (5%-difenil-95%-dimetilpolisiloxano) 30 m x 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 mm de espessura de filme, em um fluxo constante de Hélio 5.0 com taxa de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura de injeção foi de 280 °C, 1,0 µL (10 mg mL<sup>-1</sup>), com uma razão de split de 1:30. A programação de temperatura do forno iniciou-se a partir de 50 °C (isoterma durante 1,5 min), com um aumento de 4 °C min<sup>-1</sup>, até 200 °C, em seguida, a 10 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C, permanecendo por 5 min. As condições do EM foram: detector de captura iônica operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV; velocidade de varredura 1000 u/s; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos/s e fragmentos detectados na faixa de 40 a 500 Da. A análise foi realizada no Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe (COSTA, 2010).

#### **4.2.2 Obtenção dos sistemas através do diagrama de fases**

O diagrama foi composto pelos seguintes componentes: Tensoativo (PPG-5 CETETH-20), co-tensoativos (ácido oléico - AO), fase oleosa (OESA) e fase aquosa (água). O tensoativo e o co-tensoativo (T/Co-t) foram combinados na razão de 2:1 e

misturados sob agitação magnética. Para construção do diagrama, proporções específicas de PPG-5 CETETH-20: AO e OESA foram adicionadas a um béquer, misturadas por agitação magnética, a temperatura ambiente. Após um período de 30 min, a fase aquosa foi adicionada às misturas ainda sob agitação, de acordo com as proporções determinadas, agitando por mais 30 min também a temperatura ambiente. Após completa homogeneização, foi observado o aspecto visual das amostras.

Após a titulação esperou-se cinco dias para estabilização dos sistemas, foi observado e registrado o aspecto visual de cada amostra com a finalidade de construir o diagrama de fases utilizando o programa Sigma Plot v. 11 e delimitar as regiões encontradas no diagrama. Os sistemas foram classificados como microemulsão (ME) para os sistemas líquidos e opticamente transparentes ou translúcidos, cristal líquido (CL) para sistemas viscosos e opticamente transparentes, emulsão (EM) para sistemas opacos líquidos ou viscosos e separação de fases (SF).

A composição centesimal das amostras está representada na Tabela 1. Para confirmação da natureza das fases dos sistemas obtidos, foram utilizadas as técnicas de microscopia de luz polarizada (MLP) e Espalhamento de Raios X a baixo ângulo (SAXS).

**Tabela 1** – Composição centesimal das amostras do diagrama PPG-5 CETETH-20: AO 2:1/ OESA/ Água.

Amostra	Fase aquosa (%)	OESA (%)	T/Cot 2:1 (%)
A1	10	9	81
A2	20	8	72
A3	30	7	63
A4	40	6	54
A5	50	5	45
A6	60	4	36
A7	70	3	27
B1	10	18	72
B2	20	16	64
B3	30	14	56
B4	40	12	48
B5	50	10	40
B6	60	8	32

**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Nota:** OESA: Óleo essencial de *Syzygium aromaticum*.

T/Cot: Tensoativo/ Cotensoativo.

### 4.2.3 Caracterização dos sistemas

#### 4.2.3.1 Microscopia de Luz Polarizada (MLP)

A identificação das propriedades ópticas dos sistemas obtidos a partir do diagrama de fases pseudo-ternário foi realizada por Microscopia de Luz Polarizada (MLP), utilizando um microscópio Olympus BX-51 equipado com uma câmera digital LC Color Evolution (PL-A662) e Software analisador de Imagem (PixeLINK). Para as medidas, uma gota de cada amostra foi transferida para uma lamina de vidro, coberta por uma lamínula e analisada sobre luz polarizada. A medida foi realizada depois de percorrido o tempo mínimo de cinco dias para o equilíbrio dos sistemas e as medições feitas à temperatura ambiente (25°C) no Laboratório Multiusuário do Departamento de Física da Universidade Federal de Sergipe.

#### 4.2.3.2 Espalhamento de Raios X a baixo ângulo

O arranjo estrutural dos sistemas foi analisado por espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS) a temperatura ambiente. As medidas foram realizadas na linha D11-A SAXS do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) em Campinas – SP, em monocromador do tipo Silício (111) produzindo feixe de raios X incidente ( $\lambda = 1,55 \text{ \AA}$ ) colimado e detectado em um Dectris Pilatus 300k. A distância amostra-detector foi de 814 nm, permitindo um intervalo de medida do vetor de espalhamento,  $q$  ( $q = (4\pi/\lambda) \sin \theta$ ;  $2\theta =$  ângulo de espalhamento) de 0,15 para 5,7  $\text{nm}^{-1}$ . O espalhamento parasita, espalhamento de partículas existentes no sistema sem amostra, foi subtraído da intensidade total da amostra. As curvas resultantes foram normalizadas levando em consideração os efeitos do decaimento natural, da intensidade da fonte de luz síncrotron, da sensibilidade do detector e da transmitância. Os dados foram tratados no software OriginPro v.8.

#### 4.2.3.3 Análise Reológica

O ensaio de escoamento foi realizado variando a velocidade de cisalhamento de 0 a 200  $\text{s}^{-1}$ . O reômetro utilizado foi o Anton Paar (MCR -302) do Laboratório de Instrumentação Multiusuário II do Núcleo de Pós-graduação em Química (NPGQ) da

Universidade Federal de Sergipe. As formulações foram testadas à temperatura controlada de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Cada amostra foi cuidadosamente aplicada à placa inferior, assegurando o mínimo cisalhamento e permitindo um tempo de repouso de 1 minuto antes de cada determinação. Cada corrida teve duração de 4 minutos. A geometria utilizada para as análises foi do tipo cone/placa (CP) com 50 mm de diâmetro,  $1^{\circ}$  ângulo do cone e 30 mm de espaçamento entre o cone e a placa. Os dados foram ajustados com o modelo da lei de Newton através do software OriginPro, v.8.

Para os ensaios oscilatórios foi utilizado o reômetro Anton Paar (MCR-302) a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , com geometria do tipo cone/placa (CP) com 25 mm de diâmetro,  $1^{\circ}$  ângulo do cone e 52 mm de espaçamento entre o cone e a placa. Inicialmente foi realizado o teste de varredura dinâmica de tensão oscilatória (0,1 a 100 Pa) a 1Hz para determinação da região viscoelástica linear e depois de determinada foi realizado o teste de varredura de frequência de 0,01 a 100Hz a uma tensão de amplitude oscilatória fixa (0,5 Pa) de modo a avaliar a evolução dos módulos de armazenamento ( $G'$ ) e perda ( $G''$ ). As amostras foram cuidadosamente aplicadas à placa inferior, assegurando o mínimo cisalhamento e permitindo um tempo de repouso de 1 minuto antes de cada determinação. Os dados foram tratados no software OriginPro, v.8.

#### **4.2.4 Avaliação estrutural da formulação selecionada**

##### *4.2.4.1 Efeito da água na estrutura da formulação*

No precursor de fase selecionado foram acrescentados 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70% de água em relação à massa inicial. As amostras representativas de cada porcentagem de água adicionada foram caracterizadas por MLP, SAXS e reologia. Após a adição de água as amostras foram nomeadas como FA1, FA2, FA3, FA4, FA5, FA6 e FA7.

##### **4.2.4.2 EFEITO DO ALGINATO DE SÓDIO NA ESTRUTURA DA FORMULAÇÃO**

Antes da incorporação nos sistemas, o polímero foi preparado na forma de dispersão na concentração de 4% (p/v), disperso em água purificada por agitação

magnética e temperatura controlada de 60 °C até a completa homogeneização. A dispersão polimérica foi incorporada na fase aquosa, em substituição ao percentual de água presente no precursor de fase, e então volumes de 10 a 70% de água foram acrescentados na formulação e as mudanças estruturais observadas por MLP, SAXS e reologia. A amostra inicial foi nomeada de F8 e após a adição dos volumes de água as amostras foram nomeadas como F9, F10, F11, F12, F13, F14 e F15.

#### **4.2.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DOS SISTEMAS SELECIONADOS FRENTE A LARVAS DE *Ae. AEGYPTI***

Larvas da cepa de Rockefeller de *Ae. aegypti* foram adquiridas no insetário do Laboratório de Entomologia e Parasitologia tropical (LePat) do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Sergipe. Para determinação da atividade larvicida das formulações selecionadas, foram preparadas soluções aquosas de 100 ml variando a concentração dos sistemas de 5 a 90 ppm. A estas soluções foram submetidas 20 larvas Rockefeller L3/L4. O controle foi realizado com a formulação inerte sem o polímero. Os ensaios foram realizados em triplicata e após 24h, foi verificado o número de larvas mortas, sendo considerada morta a larva que não apresentava movimentos. A análise estatística foi realizada a partir da determinação da concentração letal capaz de reduzir 50% das larvas (CL50) e então calculado o intervalo de confiança. Os dados foram submetidos à análise probítica de acordo com Finney (1971).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *SYZYGium AROMATICUM*

#### 5.1.1 Rendimento e densidade do OESA

No processo de extração do OESA foi empregado o método de hidrodestilação, um processo simples e bastante utilizado na obtenção de frações voláteis de plantas aromáticas (BORSATO *et al*, 2008). O rendimento médio obtido da extração do óleo essencial de *S. aromaticum* a partir dos botões florais secos da planta foi de 3,66% (p/v) e a densidade determinada do óleo essencial foi de 1,04 g/mL. Rabêlo (2010) utilizando o mesmo método de extração do presente trabalho obteve um rendimento bastante semelhante, em torno 3,63% (p/v) e densidade de 0,973 g/mL e Santos (2014) encontrou densidade de 1,03 g/mL.

Fatores extrínsecos como a influência do clima e o solo dos locais de cultivo podem ocasionar variações nos teores e na composição química do óleo essencial de *S. aromaticum* (OLIVEIRA, 2009). Altos rendimentos são relatados na literatura, como o encontrado por Wenqiang *et al* (2007) com 10,1%, Makhaik, Naik e Tewary (2005) com 15,1% e Oliveira (2009) com 15,4% de óleo essencial. Segundo Serafin *et al* (2002) independente do método de extração utilizado, o conteúdo dos óleos essenciais extraídos é muito baixo quantitativamente, inferior a 1% em alguns casos, havendo exceções, como no caso de botões florais de cravo como descrito acima. De acordo com o resultado obtido e com os dados da literatura, pode-se afirmar que o método de extração foi adequado e reproduzível para a obtenção do OESA.

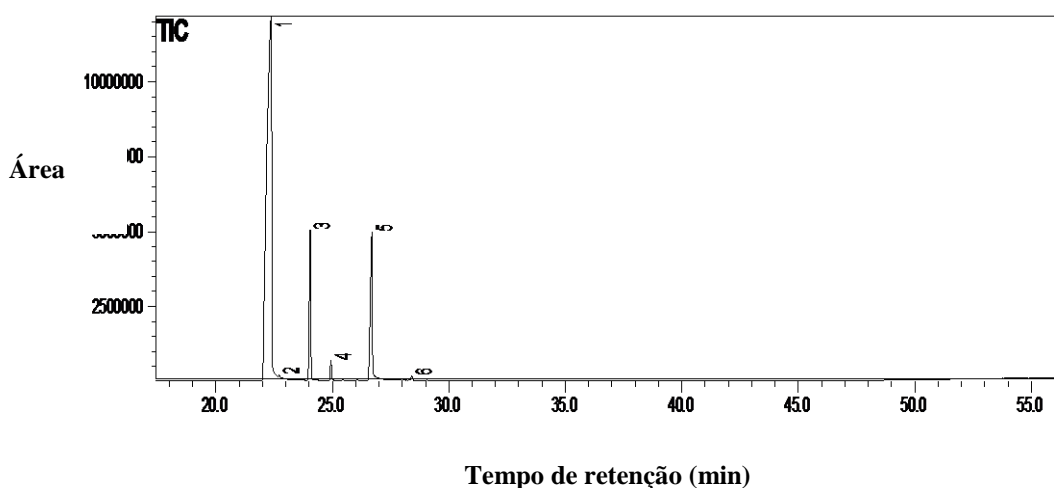
#### 5.1.2 CONSTITUINTES QUÍMICOS DO OESA

A composição química do óleo essencial de *S. aromaticum*, obtido a partir da extração dos botões florais secos está representada na Figura 11 e Tabela 2. Foram identificados seis constituintes, sendo o eugenol com 76,75% o composto majoritário, seguido do E-cariofileno com 8,87% e acetato de eugenila com 12,91%. Pereira *et al* (2008) também confirmaram o eugenol como componente majoritário do *S. aromaticum* com 86,3%, seguido de E-cariofileno 8,2%, acetato de eugenila 3,6% e  $\alpha$ -humuleno com 0,8%. Oussalah *et al* (2006) encontraram as seguintes

proporções, 78% de eugenol e 8% de acetato de eugenila. Affonso *et al* (2012) encontraram, em seus experimentos, valores do componente majoritário de 82,47%, seguido do E-cariofileno com 12,80%.

Segundo Mazzafera (2003), os óleos essenciais de *S. aromaticum* apresentam as seguintes variações: eugenol 70 a 85%, acetato de eugenila 15% e E-cariofileno 5 a 12%. Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura, apresentando elevado teor de eugenol na composição do óleo essencial de botões florais de *S. aromaticum* e diferente teor em alguns componentes minoritários. Estas diferenças podem estar relacionadas com a idade, a origem dos botões florais e método de extração do óleo essencial, entre outros (COSTA, 2010).

**Figura 11** – Cromatograma (CG/EM) do óleo essencial de *Sizygmum aromaticum*.



Fonte: O AUTOR (2016)

**Tabela 2** – Constituintes Químicos do OESA

Pico	TR (min)	Composto	%GC/MS	% GC/FID	IR cal	IR Lit
1	22,370	Eugenol	76,75	78,24	1357	1356
2	22,712	$\alpha$ -copaeno	0,23	0,79	1369	1374
3	24,040	(E)-cariofileno	8,87	8,78	1416	1417
4	24,930	$\alpha$ -humuleno	1,00	0,86	1449	1452
5	26,689	acetato de eugenila	12,91	11,11	1515	1521
6	28,403	óxido de cariofileno	0,24	0,21	1582	1582

Fonte: O AUTOR (2016)

**Nota:** TR (min): Tempo de retenção / GC-MS (%): Cromatógrafo gasoso com detector de massa  
 GC-FID(%): Cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama  
 cal.: índice de refração relativo-experimental  
 IR lit.: índice de refração relativo-literatura

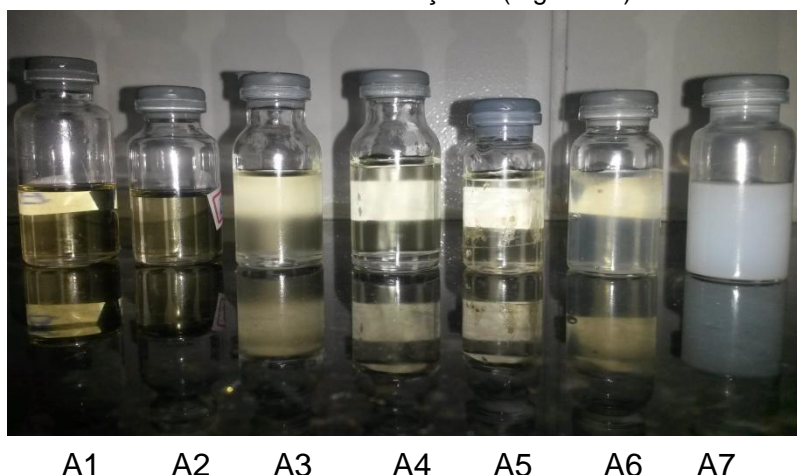


## 5.2 OBTENÇÃO DOS SISTEMAS ATRAVÉS DO DIAGRAMA DE FASES

O diagrama de fases pseudoternário foi utilizado para observar as possíveis regiões formadas. A variação na composição e na proporção dos componentes permite a obtenção de uma ampla variedade de formulações com diferentes propriedades físico-químicas (CARVALHO, 2013). O diagrama de fases foi obtido a partir da razão PPG-5 CETETH-20: AO 2:1 e está representado na Figura 13. Este diagrama apresentou quatro regiões distintas, caracterizadas por MEs (microemulsões), CLs (Cristais Líquidos), EM (Emulsão) e SF (Separação de Fase), conforme Figura 12.

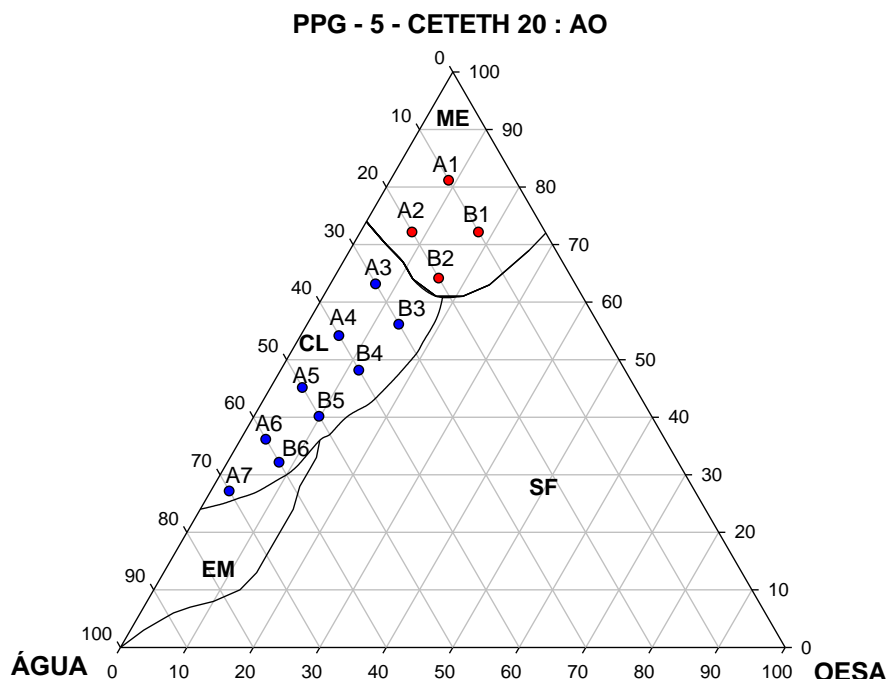
Através do diagrama é possível observar que a região de MEs formou-se em baixas concentrações de fase aquosa em até 20%, baixas concentrações de fase oleosa de 8 a 18%, e altas concentrações de T-cotenssoativo de 64 a 81%. Com o aumento da fase aquosa ocorreu formação de sistemas líquido cristalinos, em uma região com proporções de 30 a 70% de fase aquosa, 3 a 14% de fase oleosa e 27 a 63% de tensoativo, possivelmente com o aumento da fase aquosa, a parte apolar das moléculas de tensoativo se agruparam em agregados micelares de forma a se protegerem da água e então, se organizam sob a forma de bicamadas na interface água/óleo separando ambas as fases, característico de arranjos líquidos cristalinos de fase lamelar (RISSI, 2013).

**Figura 12**—Formulações obtidas a partir do diagrama de Fases Pseudo-Ternário PPG-5 CETETH-20: AO 2:1/OESA/ÁGUA. Linha de diluição A (Figura 13).



**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Figura 13** – Diagrama Pseudo-Ternário PPG-5 CETETH-20:AO 2:1/OESA/ÁGUA.



**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Nota:** ME (microemulsão); CL (Cristal Líquido); EM (Emulsão); SF (Separação de fase).

A formação de sistemas emulsionados ocorreu em altas concentrações de fase aquosa acima de 70%, fase oleosa de 1 a 8% e até 32% de tensoativo. Uma grande região de separação de fase foi formada, em altas concentrações de fase oleosa, aquosa e em concentrações intermediárias de tensoativo.

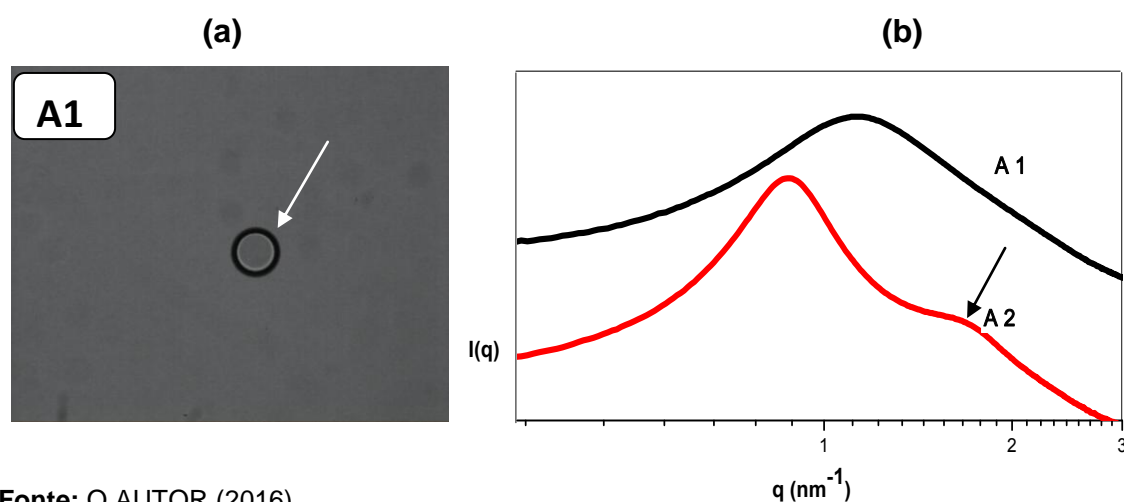
Em estudo realizado por Rissi (2013) observou-se que, ao utilizar o tensoativo PPG-5-Ceteth-20, independente do tipo de fase oleosa, foram formados sistemas homogêneos com os mais variados tipos de organização em uma ampla faixa de combinação dos componentes. No entanto, a utilização do ácido oléico como fase oleosa facilitou a formação de uma maior região de cristais líquidos, fato que pode ser atribuído ao grupo terminal ácido carboxílico ( $-\text{COOH}$ ) presente na estrutura do ácido oléico, possivelmente por ter agido como um co-tensoativo, contribuindo com o PPG-5-Ceteth-20 na diminuição da tensão interfacial dos sistemas (WANG *et al* 2006).

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

A caracterização estrutural dos sistemas obtidos foi avaliada através das técnicas de MLP, SAXS e análise reológica. Na Figura 14 está representada a fotomicrografia obtida da formulação A1 juntamente com as curvas de SAXS das formulações A1 e A2, curvas de intensidades de espalhamento  $I(q)$  em função do vetor de espalhamento  $(q) \text{ nm}^{-1}$ . Os valores de espalhamento  $q_{\text{máx}}$  e a periodicidade das formulações líquidas cristalinas estão descritos na Tabela 3.

Na Figura 14(a), a fotomicrografia representa as demais formulações localizadas na região de ME (A2, B1 e B2), essas formulações apresentam um comportamento isotrópico (campo escuro), ou seja, permitem a passagem da luz polarizada sem modificar sua propagação, característico de sistemas microemulsionados (CHORILLI *et al* 2009; RISSI 2013). A bolha de ar presente na Figura 14(a) é para comprovar o campo escuro.

**Figura 14** – (a) Fotomicrografia representativa de um comportamento isotrópico (campo escuro), obtida da ME A1 (1). (b) Curvas de SAXS das amostras A1 e A2(2).



**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Nota:** (1) A seta indica a presença de bolha de ar para comprovar o campo escuro.

(2) A seta indica a formação de um segundo pico na amostra.

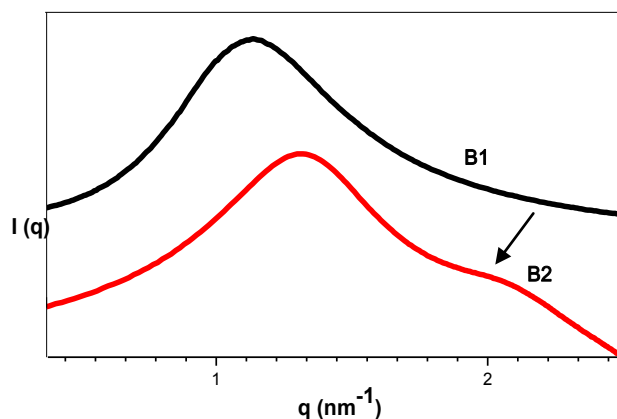
Outra ferramenta empregada na caracterização desses sistemas é a técnica de SAXS, bastante utilizada por se tratar de uma técnica mais elucidativa em relação a MLP. A partir das curvas apresentadas na Figura 14(b), é possível observar que a amostra A1 apresenta um pico largo e de baixa intensidade, característico de

sistemas microemulsionados, confirmando o que foi observado pela MLP que mostrou isotropia para essa formulação (FORMARIZ *et al*, 2007).

Na formulação A2, apesar de exibir um comportamento isotrópico na MLP, através da curva de SAXS é possível observar um pico definido, mais estreito em relação à formulação A1 e a presença de um segundo pico, o que sugere uma maior correlação espacial entre os objetos espalhadores com uma periodicidade equivalente a um arranjo mais organizado (Tabela 3), podendo assim indicar o começo de uma maior organização do sistema, localizado em uma região de transição de fases ME – CL.

O mesmo comportamento pôde ser observado na segunda linha de diluição para as amostras B1 e B2 Figura 15, na MLP as amostras apresentam campo escuro e nas curvas de SAXS é possível observar que a amostra B1 apresenta um único pico, amplo e de baixa intensidade. Com o aumento da fase aquosa, a amostra B2 apresentou pico mais estreito e com a presença de um segundo pico, indicativo de transição de fase ME-CL (Carvalho *et al*, 2010a).

**Figura 15** – Avaliação estrutural das amostras B1e B2 por SAXS.

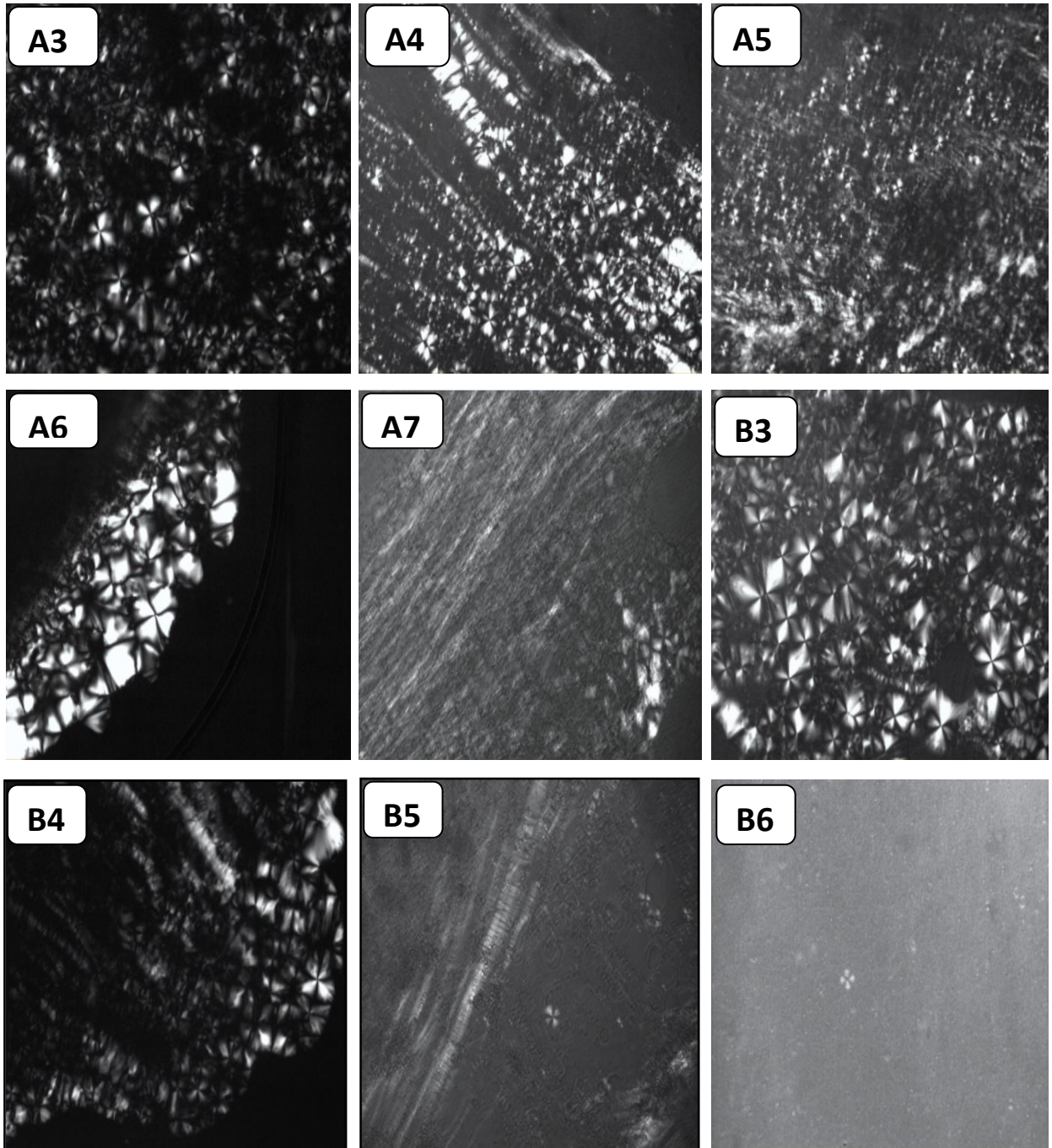


**Fonte:** O AUTOR (2016)

**Nota:** A seta indica a formação de um segundo pico na amostra.

Na Figura 16 estão representadas as fotomicrografias de sistemas anisotrópicos de fase lamelar, das duas linhas de diluição (A3 a A7 e B3 a B6). É possível observar que, à medida que a concentração de fase aquosa aumentou de 30 a 70%, houve um desvio sob o plano de luz polarizada (anisotropia), proporcionando o aparecimento de “cruzes de malta” em todas as amostras e cordões nas amostras A4, A7, B4 e B5 característicos de arranjo líquido cristalino de fase lamelar.

**Figura 16** – Fotomicrografias das amostras A3, A4, A5, A6, A7, B3, B4, B5 e B6 obtidas por Microscopia de luz polarizada. Fotomicrografias tiradas a 20.000x de todas as amostras.



**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Tabela 3** – Valores de  $q_{\text{máx}}$  e razão entre as distâncias interplanares para as amostras A1 a A7 e B1 a B6.

Amostras	$q_{\text{máx1}}$	$q_{\text{máx2}}$	$q_{\text{máx3}}$	d1/d2	d1/d3	Estrutura
<b>A1</b>	1,13	-----	-----	-----	-----	ME
<b>A2</b>	0,87	1,68	-----	2,0	-----	ME + $L\alpha$
<b>A3</b>	0,81	1,63	2,48	2,0	3,0	$L\alpha$
<b>A4</b>	0,84	1,71	2,56	2,0	3,0	$L\alpha$
<b>A5</b>	0,85	1,70	2,54	2,0	3,0	$L\alpha$
<b>A6</b>	0,51	1,02	1,53	2,0	3,0	$L\alpha$
<b>A7</b>	0,46	0,92	1,37	2,0	3,0	$L\alpha$
<b>B1</b>	1,11	-----	-----	-----	-----	ME
<b>B2</b>	0,83	1,55	-----	2,0	-----	ME + $L\alpha$
<b>B3</b>	0,77	1,57	2,32	2,0	3,0	$L\alpha$
<b>B4</b>	0,71	1,42	2,12	2,0	3,0	$L\alpha$
<b>B5</b>	0,63	1,26	1,89	2,0	3,0	$L\alpha$
<b>B6</b>	0,50	1,00	1,52	2,0	3,0	$L\alpha$

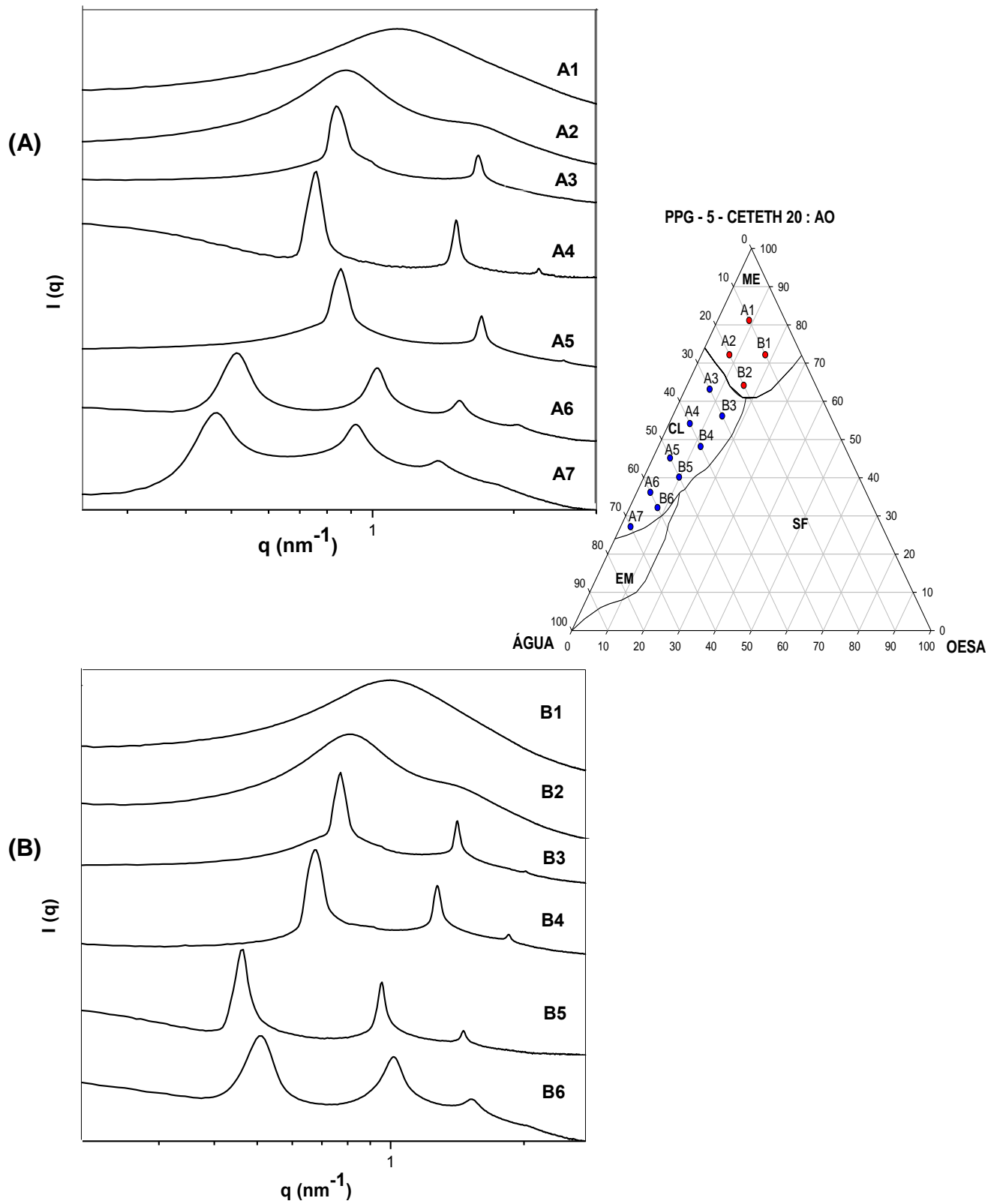
**Fonte:** O AUTOR (2016)

**Nota:** ME: Microemulsão /  $L\alpha$ : Lamelar /  $q_{\text{máx}}$ : Valor de espalhamento.

As curvas de SAXS para sistemas líquido-cristalinos exibem picos, cujo número e razão entre as distâncias de correlação permitem determinar o tipo de arranjo que os átomos formam na matriz (PATEL; PATEL, 2010). Quando a concentração de água atinge 30% (A3 e B3), as moléculas de tensoativo na interface água-óleo estabilizam os sistemas em mesofases lamelares. Nas curvas de SAXS das amostras (a) A3 a A7 e (b) B3 a B6 (Figura 17), não são observados picos alargados, e sim picos de maior intensidade de espalhamento, mais estreitos e bem definidos, característicos de estruturas mais ordenadas. Podem ser classificadas como mesofases lamelares pelas “cruzes de malta” visualizadas na MLP e confirmadas através da relação de periodicidade 1: 2: 3 (Tabela 3).



**Figura 17** – Avaliação estrutural das amostras **(A)** A1 a A7 e **(B)** B1 a B6 por SAXS.

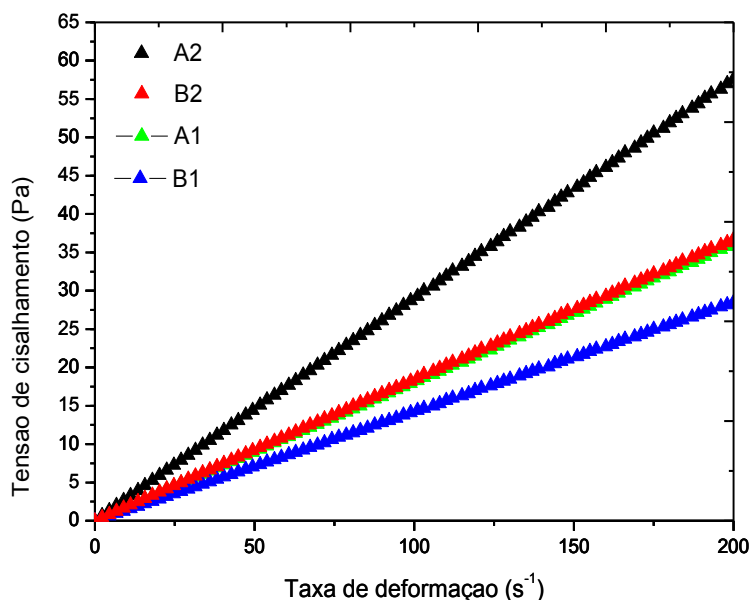


Fonte: O AUTOR (2016).

Análises reológicas são técnicas utilizadas na caracterização de diversos sistemas nanoestruturados, no caso das microemulsões e cristais líquidos as propriedades reológicas dependem do tipo, forma, quantidades e interações entre os agregados presentes (SCOTT, 2000, ACHARVA; HARTLEY 2012).

O comportamento reológico das microemulsões foi avaliado através do ensaio de fluxo. As curvas de fluxo das amostras A1, A2, B1 e B2 estão ilustradas na Figura 18. É possível observar através do reograma que as formulações apresentam um comportamento Newtoniano, pois todos os pares de valores de tensão e taxa de cisalhamento da curva de fluxo são sempre constante, o que resulta em uma reta (SCHRAMM, 2006). Da mesma forma Polizelliet al, (2006) em seu estudo também obtiveram comportamento newtoniano para microemulsões contendo óleo de soja. Estudos reológicos com microemulsões apontam que esses sistemas comumente exibem um comportamento newtoniano e sua viscosidade depende da estrutura do sistema (YAGHMUR *et al*, 2003; GARTI *et al*, 2006).

**Figura 18** – Reograma das amostras A1, A2, B1, B2, tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento.



Fonte: O AUTOR (2016).

Os resultados estão de acordo com a literatura, a qual destaca que sistemas isotrópicos como MEs e micelas apresentam uma baixa viscosidade e comportamento newtoniano, devido ao pequeno tamanho das gotículas e baixa interação entre elas (POLIZELLI *et al*, 2006). A Tabela 4 mostra os valores dos



parâmetros reológicos obtidos para cada amostra, através do ajuste do modelo lei de Newton (Equação 4).

**Tabela 4** – Valores da viscosidade ( $\eta$ ) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para as amostras A1, A2, B1 e B2 do diagrama PPG 5 CETETH 20: AO 2:1.

Amostas	Parâmetro de Flux	
	$\eta$ (Pa. s)	$R^2$
A1	0,1807	0,999
A2	0,2875	0,999
B1	0,1424	0,999
B2	0,1833	0,999

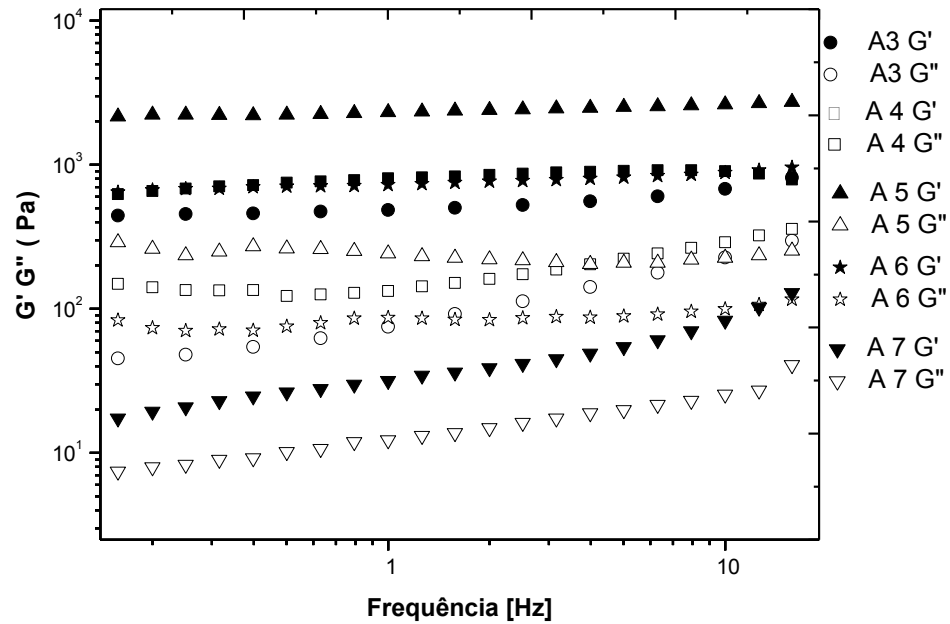
**Fonte:** O AUTOR (2016).

De acordo com os parâmetros reológicos, as amostras A1, A2, B1 e B2 apresentam comportamento newtoniano, com elevado coeficiente de determinação  $R^2 > 0,99$ , indicando uma boa correlação entre os dados experimentais e teóricos. A amostra A2 apresentou uma maior viscosidade ( $\eta$ ), o que também pode ser observado no reograma (Figura 18) onde essa amostra apresenta uma maior inclinação da reta, ou seja, quanto maior a inclinação da reta maior a viscosidade (SANTANA *et al*, 2012; BARROS, 2014).

Para determinar o comportamento das fases líquido cristalinas foram realizadas análises oscilatórias para as amostras A3 a A7 (Figura 19) e B3 a B6 (Figura 20), com a finalidade de obter maiores informações sobre suas propriedades viscoelásticas. As caracterizações reológicas foram determinadas a partir do módulo de armazenamento ou elástico ( $G'$ ) e módulo de perda ou viscoso ( $G''$ ) em função da frequência.

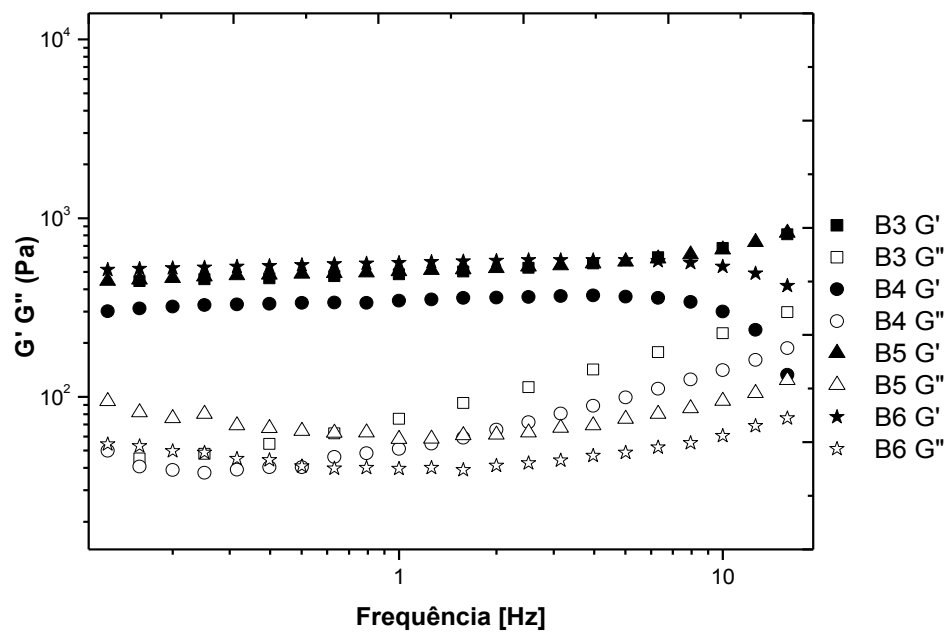
De acordo com as Figuras 19 e 20 é possível observar que todas as amostras apresentam valores de  $G' > G''$  independentes da frequência, indicando que as propriedades elásticas se sobrepõem às viscosas. Altos valores para o módulo de armazenamento refletem em uma amostra elástica, altamente estruturada e com fortes interações entre as moléculas (YARIV *et al*, 2010; CARVALHO *et al*, 2013).

**Figura 19** – Módulo de armazenamento ( $G'$ ) e módulo de perda ( $G''$ ) em função da frequência referente as amostras A3 a A7.



Fonte: O AUTOR (2016).

**Figura 20** – Módulo de armazenamento ( $G'$ ) e módulo de perda ( $G''$ ) em função da frequência referente as amostras B3 a B6.



Fonte: O AUTOR (2016).

Todos os resultados dos estudos das propriedades reológicas corroboram com os obtidos por SAXS, confirmando que os sistemas líquido-cristalinos lamelares apresentam estrutura organizada.

#### **5.4 ESCOLHA DA FORMULAÇÃO A SER ESTUDADA**

Um sistema precursor de fase líquido cristalino foi selecionado a partir da caracterização dos sistemas formados no diagrama de fases 1 (Figura 13). Este precursor apresentou baixa viscosidade e ao entrar em contato com o meio aquoso foi capaz de alcançar um estado estrutural mais organizado. Fato que contribui para a aplicação no meio teste. Assim como para a formação de um reservatório *in situ*. A formulação A2 apresentou estas características sendo a selecionada.

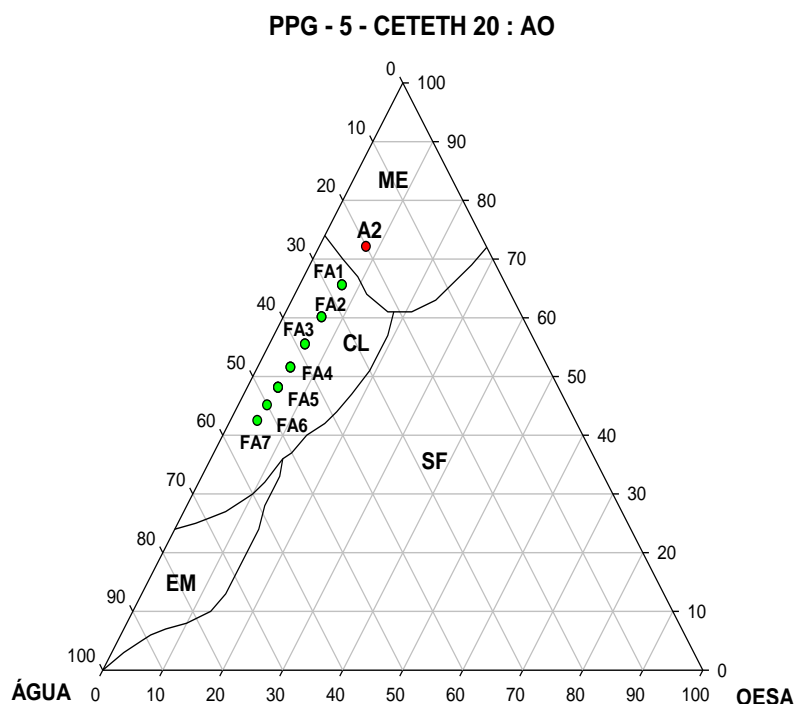
#### **5.5 AVALIAÇÃO ESTRUTURAL DA FORMULAÇÃO SELECIONADA**

##### **5.5.1 Efeito da água na estrutura da formulação**

Após caracterização de todas as formulações do diagrama 1 (Figura 13), selecionamos a formulação A2 como sistema precursor de fase a ser trabalhado. Observando o diagrama 1 é possível verificar a tendência de estruturação da linha de diluição A, no entanto as formulações presentes nessa linha de diluição apresentam proporções distintas, embora a razão entre o óleo e a mistura de T/cot seja fixa. Neste contexto a formulação selecionada foi submetida à adição de volumes crescentes de água até o limite de 7 ml, sendo este limite o volume de água da formulação A7 que de acordo com a linha de diluição encontra-se em uma região de fronteira para sistemas emulsionados.

No precursor de fase foram acrescentadas alíquotas crescentes de água de 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70%, e a mudança estrutural foi observada através das técnicas de MLP, SAXS e reologia. As formulações após a adição de água foram nomeadas como FA1, FA2, FA3, FA4, FA5, FA6 e FA7. Para visualização desses pontos no diagrama (Figura 21), foi calculada a proporção de cada constituinte da formulação após o acréscimo de água (Tabela 5).

**Figura 21** – Diagrama de fases representando os pontos de acréscimo de 10 a 70% de água em A2.



**Fonte:** O AUTOR (2016)

**Nota:** ME (microemulsão); CL (Cristal Líquido); EM (Emulsão); SF (Separação de fase).

**Tabela 5** – Proporções de fase aquosa, oleosa e tensoativo após incorporação de 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 % de água em A2.

Amostras	Água acrescentada (%)	T/Cot (%)	OESA (%)	Água (%)
A2	0	72,00	8,00	20,00
FA1	10	65,45	7,27	27,28
FA2	20	60,00	6,60	33,40
FA3	30	55,38	6,15	38,47
FA4	40	51,42	5,71	42,87
FA5	50	48,00	5,33	46,67
FA6	60	45,00	5,00	50,00
FA7	70	42,35	4,70	52,95

**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Nota:** OESA: Óleo essencial de *Syzygium aromaticum*.

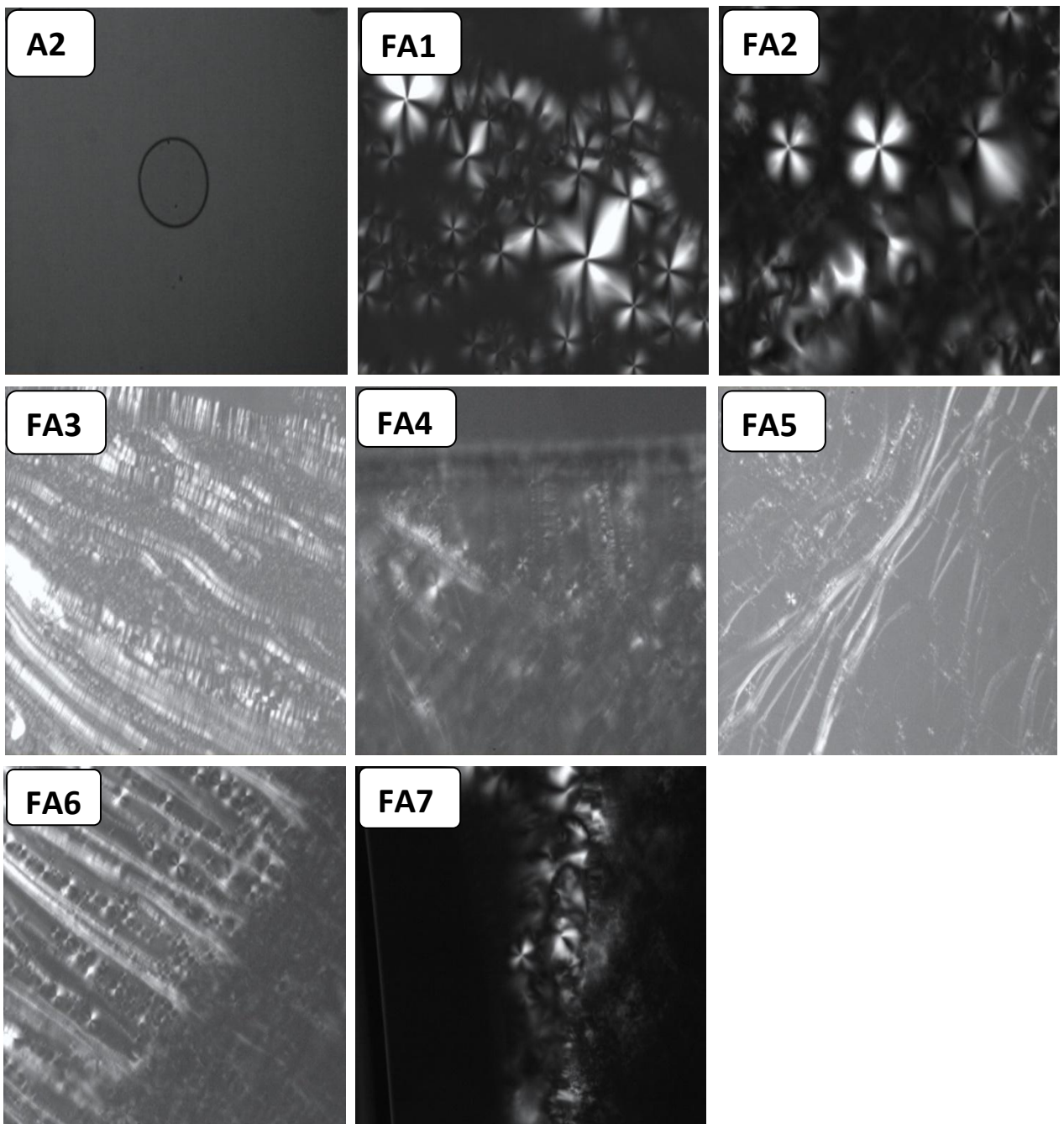
T/Cot: Tensoativo/ Cotensoativo

A partir das fotomicrografias (Figura 22) é possível observar que com o acréscimo de água houve uma mudança na estrutura do precursor, passando de sistema isotrópico para sistemas anisotrópicos, demonstrando ‘cruzes de malta’ a

partir da adição de 10% de água e presença de cordões nas amostras FA3, FA4, FA5 e FA6 caracterizando os sistemas como mesofases lamelares.

Carvalho (2009) avaliou em seu estudo o acréscimo de água em sistemas precursores de fase líquido cristalina através da MLP, e também observou a mudança de fase de sistemas isotrópicos para anisotrópicos, com o surgimento de cruzes de malta a partir da adição de 30% de fase aquosa.

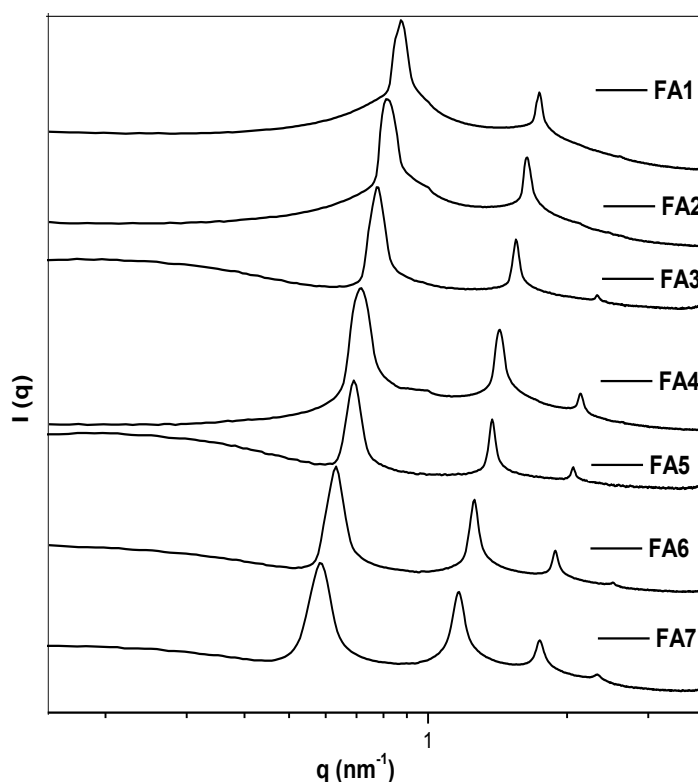
**Figura 22** – Fotomicrografias ilustrando o efeito da água na estruturação do precursor de fase A2, obtidas por Microscopia de luz polarizada (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70% de água adicionada). Fotomicrografias tiradas a 20.000x de todas as amostras.



Fonte: O AUTOR (2016).

Os resultados de SAXS corroboram com as informações obtidas através da MLP. No gráfico da Figura 23, podem ser observados picos alongados, bem definidos e de grande intensidade de espalhamento, característicos de estruturas mais ordenadas, assim como razões de 1: 2: 3 nas distâncias dos picos interplanares, indicando que esses sistemas são CLs lamelares, apresentando valores de  $q_{máx}$  de 0.860 a 0.581 (Tabela 6).

**Figura 23** – Avaliação estrutural das amostras FA1 a FA7 por SAXS.



**Fonte:** O AUTOR (2016).

Com o aumento da fase aquosa, ocorre deslocamento dos picos para menores valores de  $q$ , indicando um aumento na distância entre os objetos espalhadores ( $d$ ) (Tabela 6). Goddeeris *et al*, (2010) ao avaliarem o efeito da diluição de precursores de fase líquido cristalina por meio de análise de SAXS obtiveram resultados semelhantes ao presente estudo, um aumento da estruturação dos sistemas com o aumento da fase aquosa.

**Tabela 6** – Valores de  $q_{\max}$  e razão entre as distâncias interplanares para as formulações FA1 a FA7.

Amostras	$q_{\max 1}$	$q_{\max 2}$	$q_{\max 3}$	d2/d1	d3/d1	d(nm)	Estrutura
<b>A2</b>	0,87	1,68	-----	2,0	----	7,17	ME + L $\alpha$
<b>FA1</b>	0,86	1,73	-----	2,0	----	7,30	L $\alpha$
<b>FA2</b>	0,82	1,63	-----	2,0	----	7,63	L $\alpha$
<b>FA3</b>	0,77	1,55	2,23	2,0	3,0	8,07	L $\alpha$
<b>FA4</b>	0,70	1,42	2,12	2,0	3,0	8,87	L $\alpha$
<b>FA5</b>	0,68	1,36	2,07	2,0	3,0	9,15	L $\alpha$
<b>FA6</b>	0,62	1,24	1,88	2,0	3,0	10,04	L $\alpha$
<b>FA7</b>	0,58	1,16	1,73	2,0	3,0	10,80	L $\alpha$

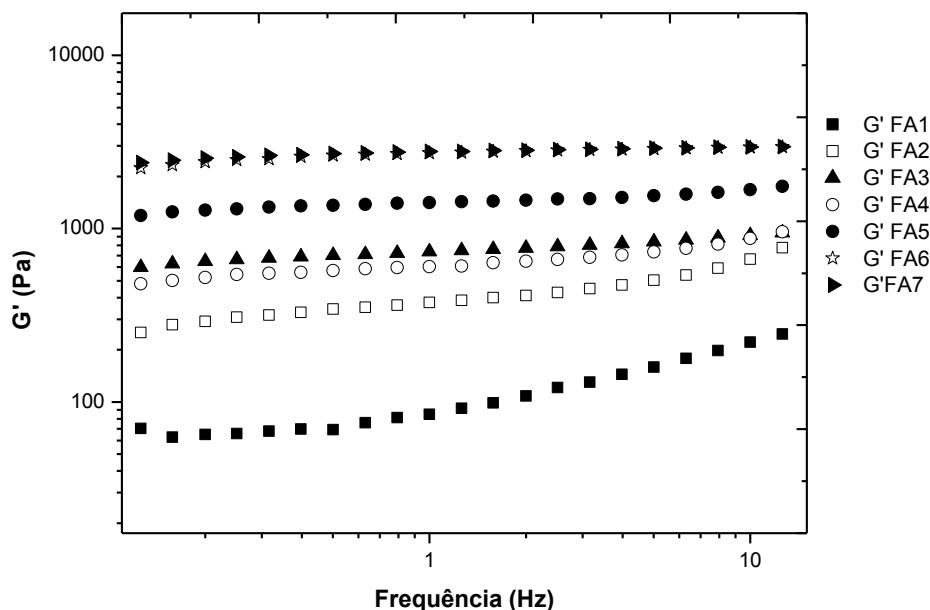
**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Nota:** ME: Microemulsão / L $\alpha$ : Lamelar /  $q_{\max}$ : Valor de espalhamento.

Através do ensaio de varredura de frequência foi possível observar as mudanças nas propriedades oscilatórias das formulações após a adição de água. Nos ensaios oscilatórios, o módulo de armazenamento  $G'$  é uma indicação qualitativa da estrutura do sistema. Sob uma tensão constante e em baixas frequências, os sistemas estruturados apresentam módulo elástico ( $G'$ ) maior que o módulo viscoso ( $G''$ ), ambos são independentes da frequência e seus gráficos são representados por uma reta constante. No caso de sistemas menos estruturados, seus módulos são dependentes da frequência e seu gráfico apresenta uma inclinação da curva (CALLENS et al., 2003; CEULEMANS *et al*, 2002).

No gráfico da Figura 24, é apresentado o módulo de armazenamento  $G'$  em função da frequência. Os sistemas mostram comportamento independente da frequência, corroborando com os resultados de SAXS e MLP. Conforme aumenta a quantidade de água ocorre um aumento no módulo de armazenamento  $G'$  ou seja, aumenta o grau de estruturação do sistema. Foi possível observar que a tendência de estruturação permanece na formulação A2 confirmando a escolha desta como formulação de trabalho.

**Figura 24** – Módulo de armazenamento ( $G'$ ) em função da frequência referente às amostras G'FA1 a G'FA7.



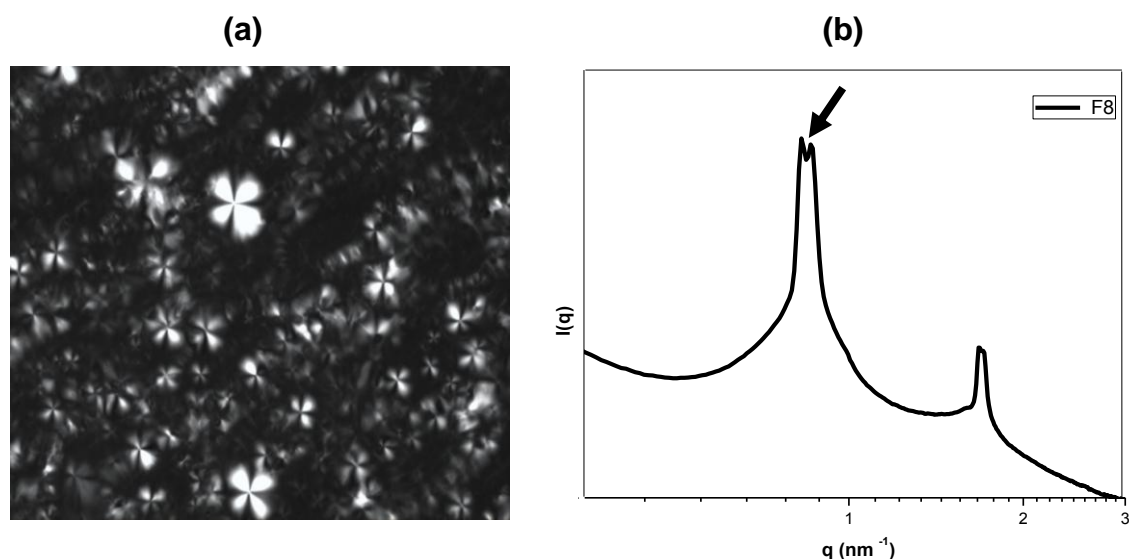
Fonte: O AUTOR (2016).

### 5.5.2 Efeito do alginato de sódio na estrutura da formulação

Ao substituímos a fase aquosa do precursor de fase A2 por uma solução de alginato de sódio a 4% houve uma modificação no sistema, passando de um precursor de fase para um cristal líquido lamelar. Na Figura 25 esta representada a fotomicrografia e a curva de SAXS da amostra F8, capaz de desviar o plano de luz polarizada, resultando no aparecimento de “cruzes de malta” característico de estrutura de fase lamelar. Os dados do SAXS permitem confirmar a estrutura do sistema, são observados picos bem definidos, correspondendo a cristais de ordem lamelar. É exibido uma mistura de picos como mostra a seta da Figura 25 (b) com valores de  $q_{\text{máx1}}$  de 0,82 e 0,85 e  $q_{\text{máx2}}$  de 1,64 com relação  $d1/d2=2$ .



**Figura 25 – (a)** Fotomicrografia da amostra F8 por microscopia de luz polarizada. **(b)** Avaliação estrutural da amostra F8 por SAXS.

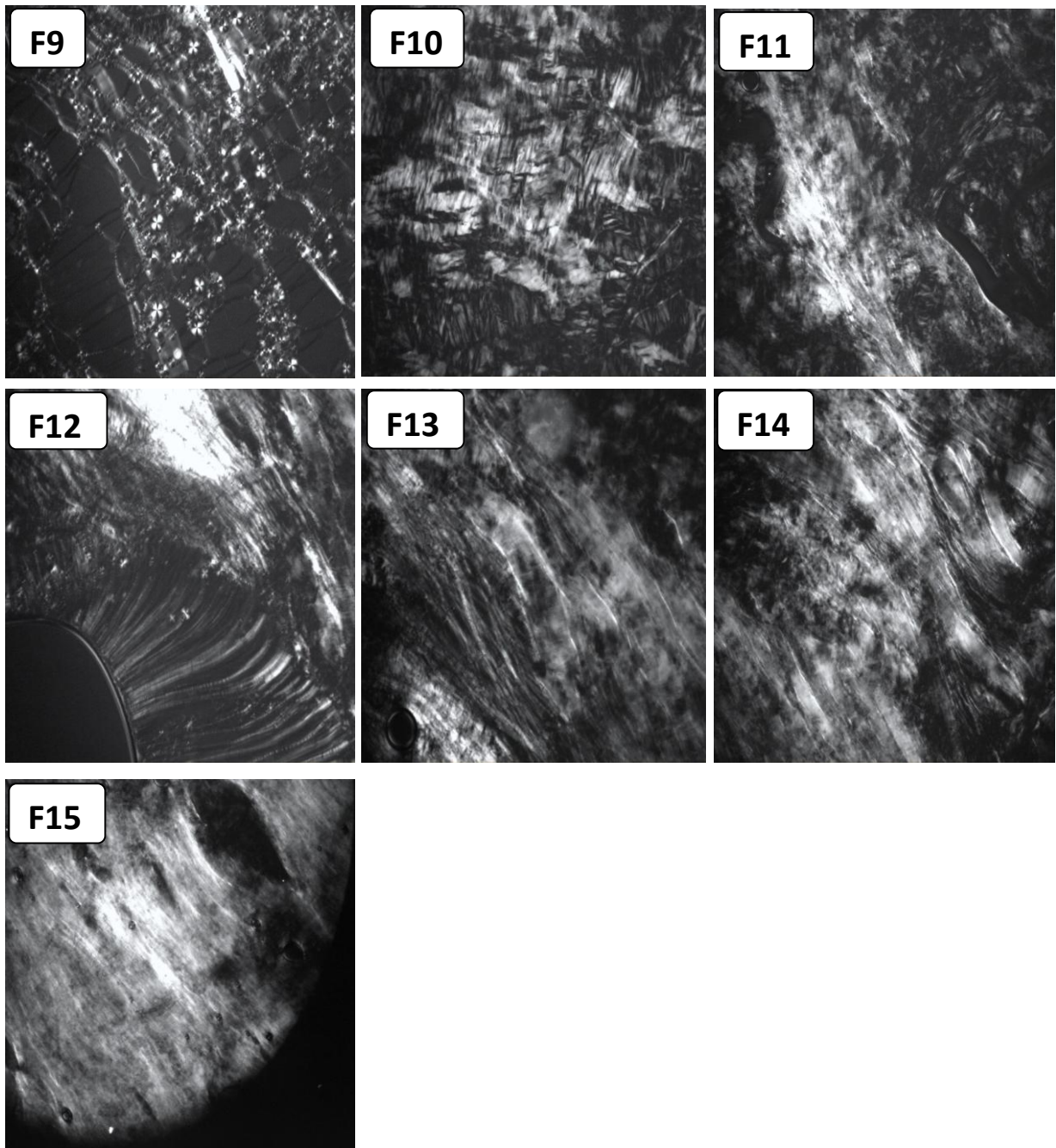


**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Nota:** A seta indica uma mistura de picos.

Feita a caracterização da amostra F8, foram adicionadas alíquotas crescentes de água de 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70%, e as amostras nomeadas de F9, F10, F11, F12, F13, F14 e F15. Na fotomicrografia (Figura 26) da amostra F9 observa-se a presença de ‘cruzes de malta’. Com o acréscimo de fase aquosa em 20, 30 e 40% (F10, F11 e F12) promoveu uma diferente organização entre os arranjos, sendo revelada através da anisotropia das amostras uma mistura de fases, visualizando-se estruturas de fase lamelar e estruturas parecidas com estrias, característica do arranjo líquido cristalino de fase hexagonal. No entanto, nas amostras F10 e F11 não foi possível através das fotomicrografias a visualização das ‘cruzes de malta’ porém as mesmas foram observadas durante a microscopia, já na fotomicrografia da amostra F12 foi possível a visualização tanto de ‘cruzes de malta’ como de estruturas parecidas com estrias. Nas amostras F13, F14 e F15 (Figuras 26) não foram visualizadas cruzeiras de malta na microscopia, apenas estruturas parecidas com estrias, o que pode ser confirmado através da técnica de SAXS.

**Figura 26** – Fotomicrografias das amostras F9, F10, F11, F12, F13, F14 e F15 (10, 20, 30, 40, 50,60 e 70 % de água). Fotomicrografias tiradas a 20.000x de todas as amostras.

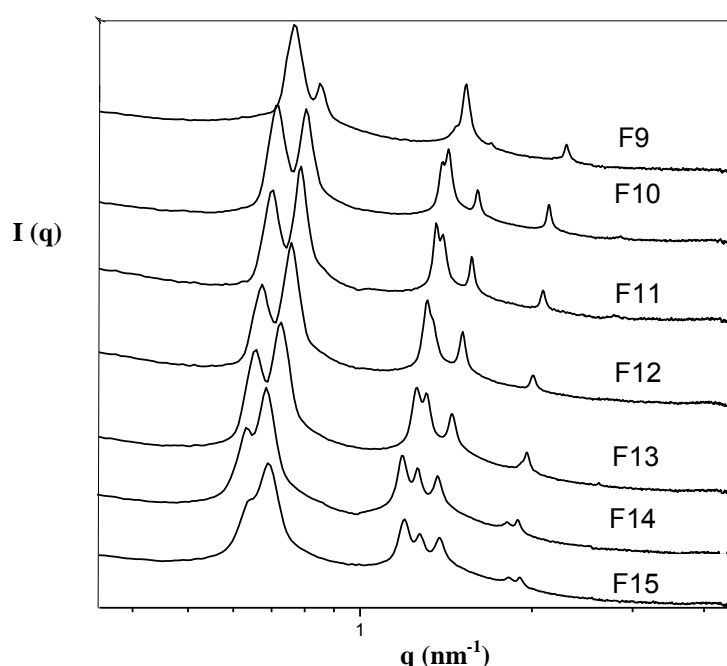


**Fonte:** O AUTOR (2016).

Rissi (2013) em seu trabalho com cristais líquidos sem a utilização do alginato de sódio observou resultados semelhantes ao presente estudo, onde se visualizou uma mistura de fases com o aumento de fase aquosa em 40 e 50%, as “cruzes de malta” foram visualizadas durante a microscopia e as estruturas parecidas com estrias visualizadas tanto na microscopia como nas fotomicrografias.

As curvas de SAXS estão representadas na Figura 27, notam-se picos intensos, bem definidos característicos de sistemas estruturados, no entanto, em todas as amostras ocorre a formação de estruturas aparentemente mistas, picos de alta e baixa intensidade, alguns com relação de periodicidade de 1: 2: 3 e outros com relação de 1: 1,73: 2: 2,64, o que poderia representar uma transição de fase de lamelar a hexagonal, com exceção apenas da amostra F15 contendo 70% de fase aquosa e com relação de periodicidade de 1: 1,73: 2: 2,64.

**Figura 27** – Avaliação estrutural através da técnica de SAXS das amostras F9 e F15.



Fonte: O AUTOR (2016).

Através da técnica de SAXS, é possível confirmar a estrutura dos sistemas. A Tabela 7 resume as mesofases identificadas e seus respectivos parâmetros. Na amostra F9, foram obtidas lamelas com razões de 1: 2: 3 e razão de 1: 2 todas com relação característica de sistemas lamelares (Tabela 7). Os resultados da avaliação estrutural das amostras F10, F11 e F12 confirmam a mistura de fases encontrada na MLP, foram obtidas razões de 1: 2: 3 e razão de 1: 1,73: 2: 2,64 entre as lamelas, o que caracteriza os sistemas como lamelar e hexagonal. Através da MLP das formulações F13 e F14 não foi possível a visualização de uma fase lamelar, entretanto suas curvas de SAXS revelaram razões de 1: 2: 3 e razão de 1: 1,73: 2: 2,64 entre as lamelas, o que mostra uma mistura de fases lamelar e hexagonal, caracterizando as amostras como precursores de fase hexagonal. A formulação F15

apresentou arranjos mais organizados que através da correlação  $d_2/d_1=1,73$  e  $d_3/d_1=2$ , revelou uma periodicidade relativa a um arranjo líquido cristalino hexagonal (Tabela7) (SOUZA *et al*, 2011; CAMPOS, 2012; LONG *et al*, 2012).

Campos e colaboradores (2012), ao estudarem as interações entre H<sub>2</sub>O e o tensoativo RENEX-100 através da técnica de SAXS, também obtiveram a formação de estruturas aparentemente mistas e de baixa definição, o que representou uma transição de fase de hexagonal para lamelar.

**Tabela 7** – Valores de  $q_{\text{máx}}$  (Å) e razão entre as distâncias interplanares para as formulações F8 a F15.

Amostras	$q_{\text{máx1}}$	$q_{\text{máx2}}$	$q_{\text{máx3}}$	$q_{\text{máx4}}$	$d_2/d_1$	$d_3/d_1$	$d_4/d_1$	d(nm)	Estr
<b>F8</b>	0,82	1,67	2,31	--	2,00	3,00	--	8,15	L $\alpha$
	0,85	1,70	----	--	2,00	--	--	7,38	L $\alpha$
<b>F9</b>	0,77	1,54	2,31	--	2,00	3,00	--	8,84	L $\alpha$
	0,85	1,70	----	--	2,00	---	--	7,75	L $\alpha$
<b>F10</b>	0,71	1,42	2,14	--	2,00	3,00	--	8,90	L $\alpha$
	0,81	1,40	1,62	2,14	1,73	2,00	2,64	8,00	H1
<b>F11</b>	0,70	1,40	2,10	--	2,00	3,00	--	8,90	L $\alpha$
	0,78	1,35	1,56	2,10	1,73	2,00	2,64	8,00	H1
<b>F12</b>	0,66	1,32	2,00	--	2,00	3,00	--	9,55	L $\alpha$
	0,75	1,32	1,50	2,00	1,73	2,00	2,64	8,30	H1
<b>F13</b>	0,65	1,30	1,90	--	2,00	3,00	--	9,60	L $\alpha$
	0,72	1,24	1,44	1,90	1,73	2,00	2,64	8,70	H1
<b>F14</b>	0,63	1,26	1,89	--	2,00	3,00	--	9,90	L $\alpha$
	0,68	1,17	1,36	1,79	1,73	2,00	2,64	9,10	H1
<b>F15</b>	0,69	1,19	1,38	1,82	1,73	2,00	2,64	9,23	H1

**Fonte:** O AUTOR (2016).

**Nota:** ME: Microemulsão / L $\alpha$ : Lamelar / H1: Hexagonal/  $q_{\text{máx}}$ : Valor de espalhamento.

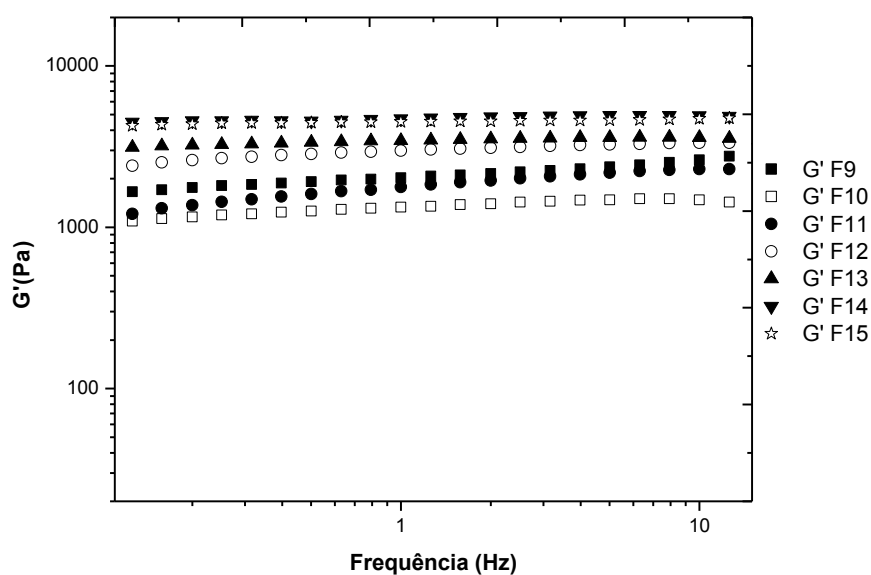
A partir dos resultados da Tabela 7, pode ser verificado um aumento na distância entre os planos (d), foram obtidos valores em torno de 7 a 10 nm. Carvalho *et al* (2010b) encontraram valores de d entre 5,5 - 6,5 para sistemas líquidos cristalinos formados por PPG-5-CETETH-20. No entanto, Carvalho *et al*, (2010a) em seu estudo relata que valores de (d) podem variar de 5 até 11 nm quando diluídos com fluído nasal simulado.

O aumento da distância entre as lamelas ocorre em função do aumento da quantidade de água e conseqüente diminuição de tensoativo no sistema, a disposição da água em torno das cabeças polares do tensoativo pode se rearranjar para outras formas, aumentando o parâmetro de empacotamento e gerando estruturas mais organizadas (SOTIRO, 2007; FORMARIZ *et al*, 2005).

Os resultados da análise reológica demonstraram que com o aumento da proporção de fase aquosa em todos os sistemas houve um aumento no caráter elástico das formulações (Figura 28). É possível observar que os valores de  $G'$  sofrem aumento para valores na ordem de 1000 Pa em todas as amostras, em comparação aos sistemas contendo água na fase aquosa (Figura 24) que só atingiram valores de  $G'$  na ordem de 1000 Pa para amostras com porcentagens altas de água (40, 50 e 60%). Esses resultados corroboram com os dados obtidos por SAXS e MLP, confirmando a estruturação organizada do sistema.

A adição do polímero na fase aquosa contribuiu na estruturação do sistema, transformando o sistema em um CL lamelar. Com o acréscimo de água as amostras apresentam um maior grau de estruturação, observados através do aumento no número de lamelas, na mudança de mesofase lamelar para mesofase hexagonal e pelo aumento no caráter elástico.

**Figura 28** – Módulo de armazenamento ( $G'$ ) em função da frequência referente às amostras G'F9 a G'F15.

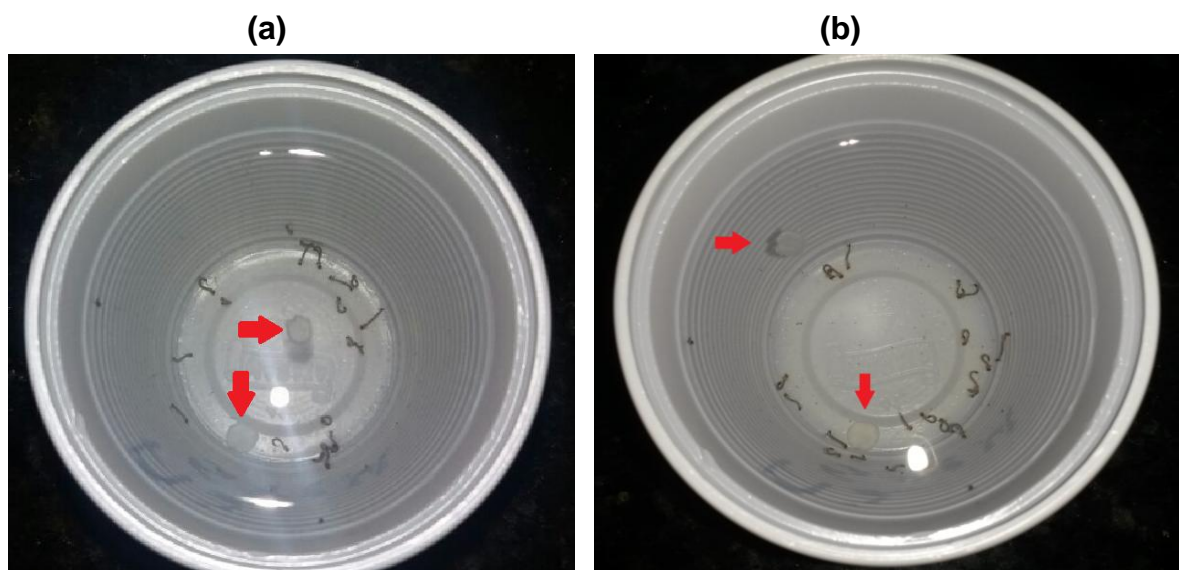


Fonte: O Autor (2016)

## 5.6 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA ( $CL_{50}$ ) DOS SISTEMAS SELECIONADOS FRENTE ÀS LARVAS DE *Ae. AEGYPTI*

As amostras A2 e F8 (Figura 29) foram avaliadas quanto a atividade larvicida a partir da determinação da concentração letal média ( $CL_{50}$ ). Estes resultados podem ser observados na Tabela 8. A Figura 29(a) representa o experimento da avaliação da  $CL_{50}$  realizada com a amostra A2, a Figura 29(b) representa o experimento da avaliação da  $CL_{50}$  realizada com a amostra F8. As setas indicam as amostras presentes nas soluções.

**Figura 29** – (a) Fotografia do experimento da avaliação da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) da amostra A2 frente às larvas de *Ae. aegypti*. (b) Fotografia do experimento da avaliação da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) da amostra F8 frente às larvas de *Ae. aegypti*.



Fonte: O AUTOR (2016).

**Tabela 8** –  $CL_{50}$  das amostras A2 e F8 frente às larvas de *Ae. Aegypti* em L3/L4, após 24h de exposição.

Amostra	$CL_{50}$ (95% IC) ppm
A2	8,14 (6,39 – 9,67)
F8	3,37 (3,15 – 3,54)

Nota: 95% IC – Intervalo de Confiança com probabilidade de 95%.

$CL_{50}$  – concentração letal necessária para matar 50% da população exposta.

ppm – partes por milhão.

Santos (2014) obteve em seu trabalho o valor de  $CL_{50}$  40,74 ppm para o OESA e  $CL_{50}$  48,19 ppm para o Eugenol, componente majoritário. Com os sistemas testados (A2 e F8), foi possível observar menores valores de  $CL_{50}$ , quando comparamos com o relatado por Santos (2014). É sugerido que estes valores de  $CL_{50}$  obtidos para A2 e F8 (Tabela 8) são justificados devido à formação de sistemas em escala nanométrica, com alta capacidade de compartimentalização de substâncias lipofílicas como o OESA.

É possível visualizar na Figura 29a que a amostra A2 se apresentou como líquida e ao ser gotejada no meio aquoso, ocorreu uma transição de fase, apresentando-se como um gel. O precursor passou para uma fase mais ordenada, sendo esta fase caracterizada com um cristal líquido do tipo lamelar. A amostra F8, o cristal Líquido do tipo lamelar, ao ser aplicado no meio aquoso (Figura 29b) também sofreu transição para uma fase mais organizada, atingindo a fase hexagonal.

As amostras A2 e F8, por possuírem estrutura nanométrica, dispersam o OESA na água de maneira mais eficiente. Sendo o aumento na dispersão do óleo, a partir dos sistemas, sugerido como responsável pela redução da  $CL_{50}$  para valores mais próximos do valor do temefós, cerca de 1 ppm, larvicida de referência (WHO, 2011).

Foram realizados ensaios larvicidas com o polímero, e como resultado foi possível observar que o mesmo não possui atividade frente às larvas do *Ae. aegypti*. Em trabalho realizado por Ferreira (2015), o autor obteve sistemas precursores de fase contendo óleo essencial de *Citrus sinensis* alcançando uma  $CL_{50}$  de 5,93 ppm sem a utilização do polímero. Portanto é sugerido que a maior estruturação do sistema F8 (devido à presença do polímero) em meio aquoso é responsável por uma  $CL_{50}$  de 3,37, menor quando comparada com a amostra A2 com uma  $CL_{50}$  de 8,14 (sem o polímero) e com o estudo de Ferreira (2015).

Vale ressaltar que serão necessários estudos adicionais para elucidar a diminuição da  $CL_{50}$  com a mudança de fase de lamelar para hexagonal. Assim como para determinar a cinética de liberação do óleo (eugenol, substância majoritária) nos sistemas estudados.

## 6 CONCLUSÕES

A composição química do óleo extraído dos botões florais secos da planta *S. aromactium* está de acordo com os resultados obtidos na literatura, tendo como componente majoritário o Eugenol (76,75%). Foram obtidos sistemas nanoestruturados contendo OESA, PPG-5 CETETH-20, ácido oléico e água, os quais apresentaram um maior nível de estruturação com o aumento da fase aquosa, o que foi comprovado pela caracterização através das técnicas de MLP, SAXS e reologia. Após a incorporação do polímero, foram realizadas as caracterizações dos sistemas obtidos, que apresentaram anisotropia com mistura de fases características de sistema lamelar e sistema hexagonal. Os sistemas selecionados A2 e F8 demonstraram potencial uso no controle larvícida do *Ae. aegypti*, por apresentarem baixos valores de  $CL_{50}$  de 8,14 e 3,37 ppm, respectivamente, sendo que a amostra contendo o polímero alginato de sódio apresentou uma maior atividade larvícida possivelmente devido a maior estruturação do sistema.



## REFERÊNCIAS

- ABRAMOWITZ, M.; PARRY-HILL, M. J.; DAVIDSON, M. **Polarized light microscopy**. The Florida State University and Olympus American Inc. 2005. Disponível em: <<http://www.microscope.fsu.edu/primer/java/polarizedlight/filters/index.html>>. Acesso em 20 nov. 2014.
- ACHARYA, D. P.; HARTLEY, P. G. Progress in microemulsion characterization. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, Elsevier, v. 17, n. 5, p. 274-280, Oct. 2012.
- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANCA, T.C.C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, 146-161, 2012.
- AGUIAR, R. Conheça melhor a doença que está chegando ao Brasil e pode causar uma epidemia pelo país. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.66, n.4, p. 10-11, out./dez.2014. Disponível em: <[http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252014000400005&script=sci\\_arttext](http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252014000400005&script=sci_arttext)>. Acesso em: 01 mar.2016.
- ALAM, M. M.; ARAMAKI, K. Liquid Crystal-based emulsions: progress and prospects. **Journal of Oleo Science**, v. 63, p. 97-108, Jan. 2014.
- ALMA, M. H.; ERTAS, M.; NITZ, S.; KOLLMANNSSBERGER, H. Chemical composition and content of the essential oil from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). **BioResources**, v. 2, n.2, p. 265-269, May 2007.
- ANDRADE, M.A.; CARDOSO, M.G.; BATISTA, L.R.; MALLET, A.C.T.; MACHADO, S.M.F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.43, n. 2, p. 399-408, Abr./June 2012.
- ANGIONI, A.; BARRA, A.; CORONEO, V.; DESSI, S.; CABRAS, P. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 12, p. 4364-4370, June 2006.
- ATWOOD, D.; FLORENCE, A.T. **Surfactant systems**: Their chemistry, pharmacy and biology. Chapman and Hall Publisher. London; Chapman and Hall, 1983.
- BACHIEGA, T.F. **Produção de citocinas pró- e anti-inflamatórias por macrófagos estimulados in vitro com própolis, alecrim-do-campo, capim-limão e cravo-da-índia**. 2011. 92f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista– UNESP, Botucatu, 2011.
- BAJPAI, V.K.; RAHMAN, A.; KANG, C.K. Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb to control

foodborne pathogenic and spoilage bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 125, n. 2, p. 117-122, July2008.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review.**Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, Feb. 2008.

BANDONI, A.L.; CZEPAK, M.P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil**. 1. ed. Espírito Santo: Edufes, 2008.624p.

BARBOSA, L. N.; RALL, V.L.; FERNANDES, A.A. H.; USHIMARU, P.I.; PROBST, I. da S.; FERNANDES JÚNIOR, A. Essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria in minced meat. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, n. 6, p. 725-728, July2009.

BEAUCAGE, G. Approximations leading to a unified exponential/power-law approach to small-angle scattering. **Journal of Applied Crystallography**, v. 28, n. 6, p. 717-728, Dec. 1995.

BERG, H.; ZAIM, M.; YADAV, R.S.; SOARES, A.; AMENESHEWA, B.; MNZAVA, A.; HIL, J.; DASH, A.P.; EJOV, M. Global Trends in the Use of Insecticides to Control Vector-Borne Diseases. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 4, p. 577-582, Apr. 2012.

BESNARD, M.; LÁSTÉRE, S.; TEISSIER, A.; LORMEAU, V.M.C.; MUSSO, D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 13, Apr. 2014.

BHATT, S.; GETHING, P. W.; BRADY, O. J.; MESSINA, J. P.; FARLOW, A. W.; MOYES, C. L.; DRAKE, J. M.; BROWNSTEIN, J.S. HOEN, A. G.; SANKOH, O.; MYERS, M. F.; GEORGE, D. B.; JAENISCH, T.; WINT, G. R. SIMMONS, C. P.; SCOTT, T. W.; FARRAR, J. J.; HAY, S. I. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504-507, Apr. 2013.

BISSET, J.A. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 54, n. 3, p. 202-219, sep./dic. 2002.

BOONME, P.; KRAUEL, K.; GRAF, A.; RADES, T.; JUNYAPRASERT, V. B. Characterization of microemulsion structures in the pseudoternary phase diagram of Isopropyl palmitate/water/brij 97: 1-butanol. **Aaps PharmSciTech**, v. 7, n. 2, p. E99-E104, June2006.

BORGES, R.A.; ARRUDA, W.; OLIVEIRA, E.S.F. de; CAVASIN, G.M.; SILVA, H.H.G. da; SILVA, I.G. da. Mecanismos da ação larvídica do diflubenzuron sobre *Aedes aegypti* evidenciados pelas alterações ultraestruturais. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 2, p. 222-232, jul2012.

BORSATO, A. V.; DONI-FILHO, L.; CÔCCO, L. C.; PAGLIA, E. C. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.)

Rauschert] extraído por arraste de vapor d'água, em escala comercial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 129-136, jan./mar. 2008.

BOYD, B. J.; WHITTAKER, D.V.; KHOO, S.M.; DAVEY, G. Lyotropic liquid crystalline phases formed from glycerate surfactants as sustained release drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 309, n. 1-2, p. 218-226, Feb. 2006.

BRAGA, I.A; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 113-118, jun. 2007.

BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Anvisa registra primeira vacina contra dengue no Brasil**. 2015a. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu++noticias+anos/2015/anvisa+registra+primeira+vacina+contra+dengue+no+brasil>>. Acesso em 05 jan. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Casos de dengue 2014**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/marco/18/Tabeladecasos.pdf>>. Acesso: 18 nov. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. **Boletim epidemiológico da Dengue**, semana epidemiológica 15, Brasília, 2015b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Monitoramento dos casos de dengue, febre chikungunya e febre pelo vírus Zika**, semana Epidemiológica 52, Brasília; 2016.

BRINON, L.; GEIGER, S.; ALARD, V.; DOUCET, J.; TRANCHANT, J.F.; COUARRAZE, G. Percutaneous absorption of sunscreens from liquid crystalline phases. **Journal of Controlled Release**. v. 60, n. 1, p. 67-76, June 1999.

BURROWS, R.; COLLET, J. H.; ATTWOOD, D. The release of drugs from monoglyceride – water liquid crystalline phase. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 111, n. 3, p. 283 - 293, Oct. 1994.

CALLENS, C.; CEULEMANS, J.; LUDWIG, A.; FOREMAN, P.; REMON, J. P. Rheological study on mucoadhesivity of some nasal powder formulations. **European Journal Pharmaceutics Biopharmaceutics**, v. 55, n. 3, p. 323-328, May 2003.

CAMELLO, T.C.F. Dengue, Chikungunya e Ebola: Viroses Ambientais. **Sustinere: Revista de saúde e Educação**, v. 2, n. 2, p. 1-13, 2014.

CAMPOS, D.D.P. de; CASSU, S.N.; GARCIA, R.B. R.; QUEIROZ, H. A.A. da S.; GONÇALVES, R.F.B.; KAWACHI, E.Y. Avaliação por SAXS e DSC das interações entre H<sub>2</sub>O e Renex-100. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, v. 2, p. 355-359, 2012.

CAMPOS, J.; ANDRADE, C.F.S. Suscetibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos, **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 3, p. 232-236, 2001.

CANDIDO, L. P.; CAVALCANTI, M.T.; BESERRA, E.B. Bioactivity of plant extracts on the larval and pupal stages of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 4, p. 420-425, July/Aug. 2013.

CARLTON, R. A. **Pharmaceutical Microscopy**. New York: Springer, 2001.

CARVALHO, F. C. **Desenvolvimento e Caracterização de Sistemas Nanoestruturados para Potencial Administração Nasal de Zidovudina**. 2009. 143f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009b.

CARVALHO, F. C.; BARBI, M. S.; SARMENTO, V. H. V.; CHIAVACCI, L. A.; NETTO, F. M.; GREMIÃO, M. P. D. Surfactant systems for nasal zidovudine delivery: structural, rheological and mucoadhesive properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, n. 4, p. 430-439, Apr. 2010a.

CARVALHO, F. C.; BRUSCHI, M. L.; EVANGELISTA, R. C.; GREMIÃO, M. P. D. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 1, p. 1-17, Jan./Mar. 2010b.

CARVALHO, F.C.; CAMPOS, M.L.; PECCININI, R.G.; GREMIÃO, M.P. D. Nasal administration of liquid crystal precursor mucoadhesive vehicle as an alternative antirretroviral therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, n. 1, p. 219–227, May 2013.

CARVALHO, J.A. de; TEIXEIRA, S.R.F.; CARVALHO, M.P. de; VIEIRA, V.; ALVES, F.A. Doenças emergentes: uma análise sobre a relação do homem com o seu ambiente. **Revista Praxis**, v. 1, n.1, p. 19-23, jan. 2009.

Centro de Operações de Emergências em Saúde Pública sobre Microcefalias (COES). Monitoramento dos casos de microcefalia no Brasil até a Semana Epidemiológica 47. Informe Epidemiológico - Semana Epidemiológica 47. 2015. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/30/coesmicrocefalias---informe-epidemiologico---se-47.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2015.

CEPLAC – Comissão Executiva de Planejamento da lavoura cacaueteira. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/cravo.htm>> Acesso em: 25 ago. 2015.

CEULEMANS, J.; VINCKIER, I.; LUDWIG, A. The use of xanthan gum in an ophthalmic liquid dosage form: rheological characterization of the interaction with mucin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 4, p. 1117-1127, Apr. 2002.

CHORILLI, M. PRESTES, P. S.; RIGON, R. B.; LEONARDI, G. R.; CHIAVACCI, L. A.; SCARPA, M. V. Desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos empregando

silicone fluido de co-polímero glicol e poliéter funcional siloxano. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 1036-1040, 2009.

CORREA, M. A.; SCARPA, M.V.; FRANZINI, M.C.; OLIVEIRA, A.G. On the incorporation of the non-steroidal anti-inflammatory naproxen into cationic O/W microemulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 43, n. 2, p. 108-114, June 2005.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F.F.G.; ANGÉLICO, E.C.; SILVA, M.R.; MOTA, M.L.; SANTOS, N.K.A.; CARDOSO, A.L.H.; LEMOS, T.L.G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, João Pessoa, v. 15, n. 4, p. 304-309, out./dez. 2005.

COSTA, A. M. B. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas contendo óleo essencial de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck pelo método de coacervação simples para o controle larvicida do *Aedes aegypti***. 2010. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE. 2010.

COSTA, A.R.T.; AMARAM, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011b.

COSTA, Z.G.A.; ROMANO, A.P.M.; ELKHOURY, A.N.M.; FLANNERY, B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 2, n. 1, p. 11-26, 2011.

COTTRELL, I.W.; BAIRD, J.K. Gums. In: KIRK, R.E.; OTHMER, D.F. **Encyclopedia of Chemical Technology**. New York: John Wiley, 1980. v. 12. p. 45-66.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. de. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 224-228, 1993.

CRODA DO BRASIL. Folha de informações de segurança de produto químico – FISPQ. **Procetyl AWS**: revisão no 1 de 29/01/2002 de acordo com NBR 14725. Campinas, 2002. 3p.

CRUZ, C.H.G.; FOGGETTI, U.; SILVA, A.N. da. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1800-1806, 2008.

CRUZ, S.A.; FARAH, M.; ZANIN, M.; BRETAS, R. Avaliação das propriedades reológicas de blendas de PEAD virgem/PEAD reciclado. **Polímeros: Ciências e Tecnologia**, São Carlos, v. 18, n. 2, p. 144-151, abr./jun. 2008b.

CRUZ, T.P. da; ALVES, F.R.; MENDONÇA, R.F.; COSTA, A.V.; JESUS JÚNIOR, W.C. de; PINHEIRO, P.F.; MARINS, A.K. Fungicidal Activity of essential oil *Cymbopogon*

winterianus jowit (citronela) against *Fusarium solani*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, p. 1-8, Jan./Feb. 2015.

CUNHA JÚNIOR, A. S.; FIALHO, S. L.; CARNEIRO, L. B.; OREFICE, F. Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**. São Paulo, v. 66, n. 3, p. 385-391, maio/jun. 2003.

CUNHA, P.L.R. da; PAULA, R.C.M. de; FEITOSA, J.P.A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 649-660, 2009.

DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W. L. L.; ARAÚJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2011.

DÉGALLIER, N.; TEIXEIRA, J.M.S.; VILARINHOS, P.T.R.; PINTO, S.C.F.; PEREIRA, R.D. First isolation of dengue 1 virus from *Aedes aegypti* in Federal District, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 1, p. 95-96, Jan./Feb. 2000.

DELÉCLUSE, A.; PÉREZ, V.J.; BERRY, C. Vector-active toxins: structure and diversity. In: CHARLES, J.F.; DELÉCLUSE, A.; LEROUX, C.N. **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.101-126.

DIAS, J. P. **Avaliação da efetividade do Programa de Erradicação do *Aedes aegypti*. Brasil, 1996-2002**. 2006. 79f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

DIAS, M.G. **Medidas de combate e controle da dengue no município de São José do Belmonte – PE**. 2011. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Gestão de Sistemas e Serviços de Saúde) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2011.

DIAZ CASTRILLÓN, F. J. Epidemiología molecular del dengue en las Americas. In: IATREIA: Revista médica Universidad de Antioquia, Medellín, v. 17, n. 3-S, 2004.

DUFFY, M.R.; CHEN, T. H.; HANCOCK, W. T.; POWERS, A. M.; KOOL, J. L.; LANCIOTTI, R. S.; PRETRICK, M.; MARFEL, M.; HOLZBAUER, S.; DUBRAY, C.; GUILLAUMOT, L.; GRIGGS, A.; BEL, M.; LAMBERT, A.; LAVEN, J. J.; KOSOY, O.; PANELLA, A.; BIGGERSTAFF, B. J.; FISCHER, M.; HAYES, E. B. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **The New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536-2543, Jun. 2009.

DUTTON, G.G.S. Polysaccharides. In: MARK, H.F.; KROSCWITZ, J.I. **Encyclopedia of polymer science and engineering**. New York: John Wiley, 1988. p.87-147, v.13.

FERNÁNDEZ, L.D.; PINEDA, C.C.; FRANCOIS, L.A. *Aedes (St.) aegypti*: relevância entomoepidemiológica y estrategias para su control. **Revista Archivo Médico de Camaguey**, v. 15, n. 3, p. 610-625, mayo/jun. 2011.

FERREIRA, S.G. **SISTEMAS NANOESTRUTURADOS OBTIDOS A PARTIR DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Citrus sinensis*/ÁGUA ESTABILIZADOS POR TENSOATIVO: AVALIAÇÃO ESTRUTURAL E POTENCIAL USO NO CONTROLE LARVICIDA DO *Aedes aegypti***. 2014. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, 2014.

FERREIRA, S.G.; CONCEIÇÃO, V.S.; GOUVEIA, N.S.; SANTOS, G.S.; SANTOS, R.L.; LIRA, A.A.; CAVALCANTI, S.C.; SARMENTO, V.H.; NUNES, R.S. An environmentally safe larvicide against *Aedes aegypti* based on in situ gelling nanostructured surfactant systems containing an essential oil. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 456, 190-196. Oct. 2015.

FIGUEIREDO, L.T.M. Arboviroses emergentes no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 2, p. 224-229, mar./abr. 2007.

FIGUEIREDO, M. L. G. de; FIGUEIREDO, L.T.M. Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v. 47, n. 6, p. 677– 683, Nov./Dec. 2014.

FLORENCE, A.T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico químicos em farmácia**. São Paulo: Edusp, 2003, 732p.

FONTOURA, N.G. **Efeito do novaluron - um inibidor da síntese de quitina – sobre *Aedes aegypti* em laboratório e simulado de campo**. 2008. 106f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) –Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: Edusp, 2002. cap.14, p. 453-492p.

FORMARIZ, T. P.; URBAN, M. C. C.; SILVA JÚNIOR, A. A. da; GREMIÃO, M. P. D.; OLIVEIRA, A. G. de. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo**, v. 41, n. 03, p. 301-313, jul./set. 2005.

FORMARIZ, T. P.; CHIAVACCI, L. A.; SARMENTO, V. H. V.; SANTILLI, C. V.; TABOSA DO EGITO, E. S.; OLIVEIRA, A. G. Relationship between structural features and *in vitro* release of doxorubicin from biocompatible anionic microemulsion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, n. 1, p. 28-35, 2007.

FRANZINI, C. M. **Estudo de microemulsões e subemulsões contendo anfotericina B para administração oral**. 2006. 119f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2006.

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde. Dengue – Instruções para pessoal de combate ao vetor: **Manual de normas técnicas**. Brasília: Ministério da Saúde; 2001.

GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.da; SARMENTO, U. C.Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvícida Contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5,n. 3, p. 363-393, maio/jun. 2013.

GODDEERIS, C.; GODERIS, B.; VAN DEN MOOTER, G. Lyotropic liquid crystalline nanostructures of aqueous dilutions of SMEDDS revealed by small-angle X-ray scattering: Impact on solubility and drug release.**European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 2, p. 110-117, May 2010.

GOFFART, I. L.; NOUGAIRE, A.; CASSADOU, S.; PRAT, C.; LAMBALLERIE, X. de.Chikungunya in the Americas.**The Lancet**,v. 383, n. 9916, p. 514, Feb. 2014.

GOSENCA,M.; ROGAC, M.B.; GAŠPERLIN,M. Lecithin based lamellar liquid crystals as a physiologically acceptable dermal delivery system for ascorbyl palmitate. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 1, p. 114-122, Sept. 2013.

GOULD, W.A. **Tomato production: processing & technology**. 3.ed. CTI publications, 1992.

GOUNARIS, Y. Biotechnonology for the production of essential oil, flavous and volatile isolates. A reiew.**Flavor fragrance Journal**, v. 25, n. 5, p. 367-386, Aug. 2010.

GOURINAT, A.C.; O'CONNOR, O.; CALVEZ,E.; GOARANT,C.; ROUZEVROL, M. D. Detection of Zika virus in urine. **Emerging Infectious Diseases journal**, v. 21, n. 1, p. 84-86, Jan. 2015.

GOYMANN, C.C. M. Physicochemical characterization of colloidal drug deliverysystems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration.**European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**,v. 58, n. 2, p. 343–356, Sept. 2004.

GOYMANN,C.C. M.; HAMANN, H.J. Sustained release from reverse micellar solutions by phase transformations into lamellar liquid crystals.**Journal of Controlled Release**, v. 23, n. 2, p. 165–174. Feb. 1993.

GUINIER, A. Propriétés générales des rayons X. In:**Theorie et technique de la radiocristallographie**, Paris: Dunod, 1964. Cap.1.

GUSTAFSSON, J.; WAHREN, H. L.; ALMGREN, M.; LARSSON, K. Submicron particles of reversed lipid phases in water stabilized by nonionic amphiphilic polymer. **Langmuir**, v. 13, n. 26, p. 6964-6971, Dec.1997.

HILL, L. E.; GOMES, C.; TAYLOR, T. M. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, 78 cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. **LWT - Food Science and Technology**, v.51, p. 86-93, 2013.



HOLMQVIST, P.; ALEXANDRIDIS, P.; LINDMAN, B. Modification of the Microstructure in Poloxamer Block Copolymer-Water-“Oil” Systems by Varying the “Oil” Type. **Macromolecules**, v. 30, n. 22, p. 6788-6797, Nov. 1997.

HONÓRIO, N. A.; CÂMARA, D.C.P.; CALVET, G.A.; BRASIL, P. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 5, p. 906-908, maio 2015.

HYDE, S. T. Identification of lyotropic liquid crystalline mesophases. In: HOLMBERG, K. (Ed.) **Handbook of applied surface and colloid chemistry**. New York: John Wiley and Sons, 2001. Cap.16. p. 299-332.

JENTES, E.S.; POUMEROL, G.; GERSHMAN, M.D.; HILL, D.R.; LEMARCHAND, J.; LEWIS, R.F.; STAPLES, J.E.; TOMORI, O.; SMITH, A. W.; MONATH, T.P.; INFORMAL WHO WORKING GROUP ON GEOGRAPHIC RISK FOR YELLOW FEVER. The revised global yellow fever risk map and recommendations for vaccination, 2010: consensus of the informal WHO Working Group on Geographic Risk for Yellow Fever. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 11, n. 8, p. 622-632, Aug. 2011.

KAO, C.L.; KING, C.C.; CHAO, D.Y.; WU, H.L.; CHANG, G.J. Laboratory diagnosis of dengue virus infection: current and future perspectives in clinical diagnosis and public health. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 38, n. 1, p. 5 -16, Feb. 2005.

KINDHAUSER, M.K.; ALLEN, T.; FRANK, V.; SANTHANA, R. S.; DYE, C. Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus. **Bulletin of the World Health Organization**; Type: Research in emergencies, p. 1-18, Feb. 2016, No prelo.

KLEIN, T. **Desenvolvimento de Sistemas Nanoestruturados Estabilizados com Álcool Cetílico Etoxilado e Propoxilado Contendo Fluconazol Potencialmente Ativo Contra Esporotricose**. 2007. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

KRAEMER, M.U.G.; SINKA, M. E.; DUDA, K.; MYLNE, A.Q.N.; SHEARER, F.M.; BARKER, C.M.; MOORE, C.G.; CARVALHO, R.G.; COELHO, G.E.; VAN BORTEL, W.; HENDRICKX, G.; SCHAFFNER, F.; ELYAZAR, I.R.; TENG, H.J.; BRADY, O.J.; MESSINA, J.P.; PIGOTT, D.M.; SCOTT, T.W.; SMITH, D.L.; WINT, G. R.; GOLDING, N.; HAY, S. I. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *A. albopictus*. **ELife**, v. 4, p. 1-18, June 2015.

KREILGAARD, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, S77-S98, 2002, Suplemento.

KUBOTA, R. L.; BRITO, M. de; VOLTOLINI, J.C. Método de varredura para exame de criadouros de vetores de dengue e febre amarela urbana. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 263-265, abr. 2003.

LAHOUD,M.H.; CAMPOS,R. ASPECTOS TEÓRICOS RELACIONADOS À REOLOGIA FARMACÊUTICA. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.11, n.1, Jan. - Jun./2010.

LAGERWALL,J. P. F.; SCALIA, G. A new era for liquid crystal research: Applications of liquid crystals in soft matter nano-, bio- and microtechnology. **Current Applied Physics**, v. 12, n. 6, p. 1387-1412, Nov. 2012.

LANCIOTTI, R. S.; KOSOY, O. L.; LAVEN, J. J.; VELEZ, J. O.; LAMBERT, A. J.; JOHNSON, A. J.; STANFIELD, S. M.; DUFFY, M. R. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007.**Emerging Infectious Diseases journal**,v. 14, n. 8, p. 1232- 1239, 2008.

LAWRENCE, M.J.; REES, G.D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems.**Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 175–193, 2012.

LECOMTE, A. **Application de la diffusion des rayon-x a l'etude de separation de phases amorphes et aux procedes sol-gel**. 1988. Tese (doutorado em) – L'Universite de Limoges, 1988.

LEE, J.; KELLAWAY, I.W. Buccal permeation of [D-Ala2, D-Leu5]enkephalin from liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 195, n. 1-2, p. 35-38, Feb. 2000.

LEWIS, M.J. **Propiedades físicas de los alimentos y los sistemas de procesado**. Zaragoza: Acribia, 1993.

LINARD,C.F.B.M. **ESTUDO DO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO EUGENOL**. 2008.90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza,2008.

LIU K, XU Y, WANG X. Microencapsulation of sweet orange oil terpeneless using the orifice method. **J Food Eng**. 2012; 110(3): 390–394.

LONG,P.; YAN, H.; GUO,X.; HAO,J. Lyotropic liquid crystal phases of lithium perfluorinated fatty acid salts in aqueous solutions and molecular dynamics study of the lamellar phase. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 135, p. 315-322, Mar. 2012.

LÓPEZ, A.; LLINARES, F.; CORTELL, C.; HERRÁEZ, M. Comparative enhancer effects of Span 20 with Tween 20 and Azone on the in vitro percutaneous penetration of compounds with different lipophilicities. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 202, n. 1-2, p. 133-140, July2000.

LORMEAU,V.M.C.; ROCHE, C.; TEISSIER, A.; ROBIN, E.; BERRY, A.L.; MALLET, H.P.; SALL, A. A.; MUSSO, D. Zika virus, French polynesia, South pacific, 2013. **Emerging Infectious Diseases**,v. 20, n. 6, p. 1085-1086, Jun. 2014.

LOWY, I. **Vírus, mosquitos e modernidade. A febre amarela no Brasil entre ciência e política**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006. 427p.

MALMSTEN, M. (Ed.) **Surfactants and Polymers in Drug Delivery**. New York: Infoma Healthcare, 2002. 348p.

\_\_\_\_\_. Phase Transformations in Self-Assembly Systems for Drug Delivery Applications. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 63-72, Jan. 2007.

MAMANI, E. New serotype 5 of dengue virus: need to strengthen the molecular surveillance in Peru. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, v. 31, n. 1, p. 169-180, 2014.

MARINHO, S.C. **ESTUDO QUÍMICO, AVALIAÇÃO ELETROQUÍMICA E ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DA *Pimenta dioica* Lindl FRENTE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)**. 2010.125f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

MAKHAIK, M.; NAIK, S. N.; TEWARY, D. K. Evaluation of anti-mosquito properties of essential oils. **Journal of scientific & industrial research**, v. 64, p. 129-133, 2005.

MARTINS, F.S. V.; CASTIÑEIRAS, T.M.P.P. **Dengue**. CIVES - Centro de Informação em Saúde para Viajantes, 2008. Disponível em: <<http://www.cives.ufrj.br/informacao/dengue/den-iv.html>>. Acesso em 10 jan. 2016.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2, p. 231-238, Jun. 2003.

MIYAZAKI, S.; YOKOUCHI, C.; NAKAMURA, T.; HASHIGUCHI, N.; HOU, W.M.; TAKADA, M. Pluronic F-127 gels as a novel vehicle for rectal administration of indomethacin. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tóquio, v. 34, n. 4, p. 1801-1808, Apr. 1986.

MORAIS, G.G; SANTOS, O.D.H.; OLIVEIRA, W. R., ROCHA FILHO, P.A. Attainment of o/w emulsions containing liquid Crystal from annatto oil (*Bixa orellana*), coffee oil, and tea tree oil (*Melaleuca aternifolia*) as oily phase using HLB and ternary phase diagram. **Journal of dispersion science and technology**, Philadelphia, v. 29, n. 2, p. 297-306, Jan. 2008.

MOTA, L.M.H.; OLIVEIRA, A.C.V.; LIMA, R.A.C.; SANTOS, N. L.L.; TAUIL, P.L. Vacinação contra febre amarela em pacientes com diagnósticos de doenças reumáticas, em uso de imunossupressores. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 1, p. 23-27, jan./fev. 2009.

MOTT, L.R. **Mecânica de fluidos aplicada**. 4. ed. México: Prentice-Hall Hispanoamericana S. A., 1996. 567p.

MOUCHREK F.V.E.; **Estudos Analíticos e modificações químicas por metilação e acetilação do eugenol contido no óleo essencial extraído das folhas da espécie *Pimenta dioica* Lindl**. 2000. 124f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

MUSSO D.; NHAN, T.; ROBIN, E.; ROCHE, C.; BIERLAIRE, D.; ZISOU, K.; SHAN, Y. A.; LORMEAU, V. M. C.; BROULT, J. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 14, p. 1-3, Apr. 2014.

NAOMI, K. S.; LIMA, E. da C.; CONCEIÇÃO, S. da R.; KUSTER, R. M.; OLIVEIRA FILHO, A. M. de. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – Atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (Óleo Vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, São Paulo, n. 27, n. 1, p. 46-49, 2004.

NARANG, A. S.; DELMARRE, D.; GAO, D. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 345, n. 1-2, p. 9-25, Dec. 2007.

NASCIMENTO, A. A.; **Óleoessencial dos botões florais do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*): Extração, caracterização e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti***. 2012. 95f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Maranhão, 2012.

NELSON, M. J. ***Aedes aegypti*: biologia y ecologia**. Washington, DC: PAHO COLL, 1986.

NOBRE, A.; ANTEZANA, D.; TAUIL, P. L. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 27, p. 59-66, 1994. Suplemento 3.

NORMILE, D. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts. **Science**, v. 342, n. 6157, p. 415, Oct. 2013.

OEHLER, E.; WATRIN, L.; LARRE, P.; GOFFART, I. L.; LASTÈRE, S.; VALOUR, F.; BAUDOUIN, L.; MALLET, H. P.; MUSSO, D.; GHACWE, F. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 9, p. 7-9, Mar. 2014.

OLIVEIRA, A. G. de; CHIAVACCI, L. A.; SCARPA, M. V.; EGITO, E. S. T. Microemulsions: physico-chemical approaches on the system for pharmaceutical applications. In: Songjun Li (Ed). (Org.). **Current focus on Colloids and Surfaces**. Kerala: Research Signpost, 2009. chap. II, p. 1-44.

OLIVEIRA, A. G. de; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: Estrutura e Aplicações como sistema de Liberação de Fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 131-138, fev. 2004.

OLIVEIRA, A. M. A. F. Resistência dos Insetos aos Inseticidas, a Situação Atual do *Aedes aegypti* e a Explosão de Dengue no Rio de Janeiro em 2002. **Vetores & Pragas**, v. 11, p. 9-13, 2002.

OLIVEIRA, M. L.; MELO, G. L.; NIELLA, A. R. R.; SILVA, V. R. Black root rot caused by *Rosellinia pepo*, a new disease of the clove tree in Brazil. **Tropical Plant pathology**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 90-95, Mar./Apr. 2008.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* 0157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, [S.l.], 2006.

OYEWOLE, I. O.; MORONKOLA, D. O.; OGUNWANDE, I. A.; OKOH, H.; IBIDAPO, C. A.; DENLOYE, A. B.; OGUNNOWO, A. A.; ADEDAYO, M. Larvicidal activity of the essential oil from *Phyllanthus amarus* Sch. et Thonn (Euphorbiaceae) against three species of mosquitoes. *Der Pharmacia Lettre Journal*, v. 2, n. 6, p. 136-141, 2010.

PASQUEL, A. Gomas: utilização e aspectos reológicos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 86-97, 1999.

PATEL, R.; PATEL, T. N. Liquid crystals and their application in the field of drug delivery. In: FANUN, M. (Ed.). **Colloids in Drug Delivery**. Boca Raton: CRC Press, 2010. cap. 13, p. 311-336.

PEDERSEN, J.S. Analysis of small-angle scattering data from micelles and microemulsions: free-form approaches and model fitting. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 4, n. 3, p. 190-196, June 1999.

PEREIRA, T.; **MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO EUGENOL PELO MÉTODO DE SPRAY DRYING**. 2007. 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

PEREIRA, A.B.; CARDOSO, M.G.; ABREU, L.R.; MORAIS, A.R.; GUIMARÃES, L.G.L.; SALGADO, A.P.S.P. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.3, p.887-893, maio/jun.2008.

PESSOA, I.; FONTES, E.; GABURO, N. Dengue. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 5, p. 313-314, out. 2005.

PINTO, C.E.M. Fungitoxicidade associada ao extrato etanólico de cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) sobre *Cladosporium shpaerospermum*. In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DE REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 3., 2008. Fortaleza. **Resumo Impresso**. Fortaleza: CEFET, 2008. p.11-12.

PITASAWAT, B.; CHAMPAKAEW, D.; CHOOCHOTE, W.; JITPAKDI, A.; CHAITHONG, U.; KANJANAPOTHI, D.; RATTANACHANPICHAI, E.; TIPPAWANGKOSOL, P.; RIYONG, D.; TUETUN, B.; CHAIYASIT, D. Aromatic plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. **Fitoterapia**, v. 78, n. 3, p. 205–210, Apr. 2007.

POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. de O.; ALVES, S.B. Potencial de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 6, p. 813-816, dez. 2003.

POLIZELLI, M.A.; TELIS, V.R.N.; AMARAL, L.Q.; FEITOSA, E. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 281, n. 1-3, p. 230–236, June 2006.

PRASAD, R.C.; HERZOG, B.; BOONE, B.; SIMS, L.; LAW, M. W. An extract of *Syzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic gluconeogenic enzymes. **Journal Ethnopharmacol**, v. 96, n. 1-2, p. 295-301, Jan. 2005.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990, 518 p.

RABÊLO, W. F.; **Caracterização química, citotoxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*)**. 2010. 79f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 2010.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K.; Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, n. 3, 208-211, 2002.

RANGEL, M.L. Dengue: educação, comunicação e mobilização na perspectiva do controle – propostas inovadoras. **Interface**, Botucatu, v. 12, n. 25, p. 433 - 441, abr./jun. 2008.

RAO, A. M. **Rheology of fluid and semisolid fluids: principles and applications**, 1. ed. Maryland: An Aspen Publication, 1999. 433p.

RISSI, N.C. **Correlação entre estrutura e propriedades de sistemas líquidos cristalinos para a liberação prolongada de fármacos**. 2013. 126f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2013.

RODRIGUES, L.B.O. **Estudos reológicos e de textura dos géis de amido de araruta (*Maranta arundinaceae* L.) e dos géis adicionados de sacarose e concentrado protéico de soro**. 2014. 69p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Itapetinga, 2014.

ROSSI, C. G. F. T.; DANTAS, T. N. de C.; DANTAS NETO, A. A.; MACIEL, M. A.M. Tensoativos: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Revista Universidade Rural, Série Ciências Exatas e da Terra**, Seropédica/RJ, v. 25, n. 1-2, p. 73-85, 2006.

RUST, R.S. Human arboviral encephalitis. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 19, n. 3, p. 130-151, Sept. 2012.

SANCHÉS, Z.M.T.; PERTUZ, S. A. B.; SERRANO, R. M. Chikungunya: aspectos generales de una enfermedad emergente en Colombia. **Biociencias**, v. 10, n. 1, p. 75-88, enero/jun. 2015.

SANTANA, R. de C.; FASOLIN, L. H.; CUNHA, R. L. da. Effects of a cosurfactant on the shear dependent structures of systems composed of biocompatible ingredients. **Colloids and Surfaces A**, v. 398, p. 54-63, Mar. 2012.

SANTOS, A.J. “**Nanocompósitos contendo óleo essencial de *Syzygium aromaticum*: Obtenção, caracterização e atividade larvica contra o *Aedes aegypti***”. 2014. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, 2014.

SARAIVA, M.C.G.; AMORIM, R.D.S.; MOURA, M.A.S.; SANTOS, E.C.S.; SAMPAIO, L.S.; BARBOSA, M.G.V. Historical analysis of the records of sylvan yellow fever in the State of Amazonas, Brazil, from 1996 to 2009. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 2, p. 223-226, Mar./Apr. 2013.

SATO, B.M. **Síntese e propriedades de líquidos iônicos e tensoativos**. 2011. 166f. Tese (Mestrado em Química) – Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2011.

SCHWARTZ, L.M.; HALLORAN, M. E.; DURBIN, A.P.; LONGINI, I.M. The dengue vaccine pipeline: Implications for the future of dengue control. **Vaccine**, v. 33, n. 29, p. 3293–3298, June 2015.

SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria: fundamentos teóricos e práticos**. São Paulo: Artliber, 2006, 240p.

SCOTT, H. Rheology. In: **Remington: the science and practice of pharmacy**. Philadelphia: Editora Lippincott, 2000. cap. 23, p. 335-355.

SENG, C.M.; SETHA, T.; CHANTA, N.; SOCHEAT, D.; GUILLET, P.; NATHAN, M.B. Inhibition of adult emergence of *Aedes aegypti* in simulated domestic water-storage containers by using a controlled-release formulation of pyriproxyfen. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 1, p. 152-154, Mar. 2006.

SERAFINI, L.A.; SANTOS, A.C.A.; TOUGUINHA, L.A.; AGOSTINI, G.; DALFOVO, V. 2002. **Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais**. Caxias do Sul: EDUCS.

SHAH, J.C.; SADHALE, Y.; CHILUKURI, D.M. Cubic phase gels as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, n. 2-3, p. 229-250, Apr. 2001.

SHAW, D.J. **Introdução à Química dos Colóides e de Superfícies**. São Paulo: Edgar Blucher Ltda, 1975.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C. de; HENRIQUES, M. das G. M. O.; RAMOS, M. F. de S. Óleos essenciais – potencial anti-inflamatório. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, São Paulo, v. 16, p. 38-43, set./out. 2000.

SILVA, S. L. da; CHAAR, J. da S.; FIGUEIREDO, P.M. da S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, n. 1, p. 107-112, 2008.

SILVA, T.P.T. e; FERREIRA, I.deL.M. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 11, p.2498–2498, nov. 2006. Resenha.

SILVESTRI, J.D.F.S.; PAROUL, N.P.; CZYEWski, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CASIAN, L.; MOSSIN, A.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 5, p. 589-594, set./out. 2010.

SIMMONS, C.P.; FARRAR, J.J.; CHAU, N.V.V.; WILLS, B. Dengue. **The New England Journal of Medicine**, v. 366, p. 1423–1432, Apr. 2012.

SIMÕES C.M.O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre / Florianópolis: UFRGS/Editora da UFSC, 2004. 524p.

SINKO, P. J. **Martin**: Físico-farmácia e ciências farmacêuticas. 5ª edição. Porto Alegre: Editora Artmed, 2008, 810p.

SOLANS, C.; KUNIEDA, H. (Eds.). **Industrial Applications of Microemulsions**. Surfactant Science Series, v. 66. New York: Ed. Dekker, 1997. 20p.

SOUZA, A.L.R. de; ANDREANI, T.; NUNES, F.M.; CASSIMIRO, D.L.; ALMEIDA, A. E. de; RIBEIRO, C. A.; SARMENTO, V.H.V.; GREMIÃO, M. P.D.; SILVA, A.M.; SOUTO, E.B. Loading of praziquantel in the crystal lattice of solid lipid nanoparticles: Studies by DSC and SAXS. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, v. 108, n. 1, p. 353–360, Apr. 2012.

Steffe, J. F. (1996). Rheological methods in food process engineering (2nd ed.). East Lansing, MI, USA: Freeman Press.

TABILO-MUNIZAGA, G.V.; BARBOSA-CÁNOVAS. **Journal of Food Engineering**, v.67, p. 147–156, 2005

TADROS, T.F. **Applied surfactants**: Principles and Applications. 1.ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA, 2005.

TAUIL, P.L. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 555-558, jun. 2010.

\_\_\_\_\_. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3, p. 867-871, maio/jun. 2002.

\_\_\_\_\_. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, p. S99-S102, jan. 2001. Suplemento



TEIXEIRA, D. F. **Estudo químico e avaliação biológica de *Attalea excelsa* Mart. ex Spreng. (urucuri) e *Pterodon emarginatus* Vog. (sucupira branca) em *Aedes aegypti*.** 2003. 124f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

TEIXEIRA, M. da G.; BARRETO, M.L.; GUERRA, M. Z. Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue. **Informe Epidemiológico do SUS**, Brasília, v. 8, n. 4, p. 5-33, dez. 1999.

TENJARLA, S. Microemulsions: an overview and pharmaceutical applications. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 16, n. 5, p. 461-521, 1999.

TRANQUILIN, M.V.; LEHMKUHL, R.C.; MARON, A.; SILVA, L.R.; ZILLOTTO, L.; SEKI, M.C.; SALOMON, G.R.; CARRASCO, A.O.T. First report of yellow fever virus in non-human primates in the State of Paraná, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 4, p. 522-524, July/Aug. 2013.

URBAN, M. C. C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação micro e nanoestruturados para administração cutânea do acetato de dexametasona.** 2004. 136f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2004.

VAREJÃO, J. B. M.; SANTOS, C.B. dos; REZENDE, H.R.; BEVILACQUA, L.C.; FALQUETO, A. Criadouros de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na cidade de Vitória, ES. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 38, n. 3, p. 238-240, maio/jun. 2005.

VASCONCELOS, P.F.C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 6, n. 2, p. 9-10, jun. 2015.

VASCONCELOS, P.F.C.; ROSA, A. P. A. T. da; DÉGALLIER, N.; ROSA, J.F.S. T. da; PINHEIRO, F.P. Clinical and ecoepidemiological situation of human arboviruses in Brazilian Amazonia. **Ciência e Cultura (Journal of the Brazilian association for the Advancement of Science)**, São Paulo, v. 44, n. 2-3, p. 117-124, Mar./June 1992.

VASCONCELOS, P. F.; ROSA, A. P. A. T. da; PINHEIRO, F. P.; ROSA, J. F. S. T. da. Arboviroses. In: VERONESI, R. FOCACCIA, R. (Eds.). **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, p.289-302, 2005.

WANG, Z.; DIAO, Z.; LIU, F.; LI, G.; ZHANG, G. Microstructure and rheological properties of liquid crystallines formed in brij 97/water/ipm system. **Journal Colloid Interface Science**, v. 297, n. 2, p. 813-818, May 2006.

WEI, G.; XU, H.; DING, P. T.; LI, S.M.; ZHENG, J.M. Thermosetting gels with modulated gelation temperature for ophthalmic use: The rheological and gamma

scintigraphic studies. **Journal of Controlled Release**, v. 83, n. 1, p. 65–74. Sept. 2002.

WENQIANG, G. et al. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1558–1564, 2007.

WOOD, J. H. Reologia Farmacêutica. In: LACHMAN, L.; HERBERT, A.; LIEBERMAN, H.; KANIG, J. L. (Eds). **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. 3.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986, v. 1, cap. 6, p. 210-253.

World Health Organization (WHO). **Dengue**: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition, Geneva: WHO Press, 2009.

WYATT, D.M.; DORSCHER, D.A Cubic-phase delivery system composed of glyceryl monooleate and water for sustained release of water-soluble drugs. **Pharmaceutical Technology**, v. 16, p. 116-130, 1992.

YAGHMUR, A.; ASERIN, A.; ANTALÉK, B.; GARTI, N. Microstructure Considerations of New Five-Component Winsor IV Food-Grade Microemulsions Studied by Pulsed Gradient Spin-Echo NMR, Conductivity, and Viscosity. **Langmuir**, v. 19, n. 4, p. 1063–1068, Jan. 2003.

YARIV, D.; EFRAT, R.; LIBSTER, D.; ASERIN, A.; GARTI, N. In vitro permeation of diclofenac salts from lyotropic liquid crystalline systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 78, n. 2, p. 185-192, July 2010.

ZANLUCA, C.; MELO, V.C.A.; MOSIMANN, A.L.P.; SANTOS, G.I.V.; SANTOS, C.N.D.; LUZ, K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n. 4, p. 569-572. June 2015.

ZAPANA, V.S. Mosquito *Aedes aegypti* muta y se adapta a los 2.600 msnm. **Jornal Página Siete**, La Paz, marzo 2016. Disponível em <<http://www.paginasiete.bo/sociedad/2016/3/11/mosquito-aedes-aegypti-muta-adapta-2600-msnm-89455.html>>. Acesso em 5 Maio 2016.

ZHENG, M.; WANG, Z.; LIU, F.; MI, Q.; WU, J. Study on the microstructure and rheological property of fish oil lyotropic liquid crystal. **Colloid and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 385, n. 1-3, p. 47-54, July 2011.

## APÊNDICE A – RESUMO ACEITO NO I INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DRUG DELIVERY SYSTEMS

### NANOSYSTEMS STABILIZED BY SURFACTANTS FOR PROMISING LARVICIDE AGAINST *Aedes Aegypti* CONTROL: OBTAINING AND EVALUATING THE STRUCTURAL

[Pinheiro K.P.<sup>1</sup>, Santos G.S.<sup>1</sup>, Lima A.D.<sup>1</sup>, Sarmiento V.H.V.<sup>2</sup>, Nunes R.S.<sup>1</sup>]

<sup>1</sup>Pharmacy Department, Federal University of Sergipe, São Cristovão, Brazil.

<sup>2</sup> Chemistry Department, Federal University of Sergipe, Itabaiana, Brazil.

[*Aedes Aegypti*, OESA, liquid crystal, liquid crystal precursor, characterization]

#### 1. Introduction

The number of reported dengue cases in Brazil and around the world is increasing due to acquired resistance to conventional insecticides by the vector. The essential oil of *Syzygium aromaticum* (OESA) has demonstrated activity against larvae of *Aedes aegypti*, however the low solubility in the aqueous medium oil is a limitation. The nanosystems stabilized by surfactants, microemulsions, liquid-crystalline phase precursors and liquid crystals are potential systems that can minimize this limitation. The precursors cited in contact with aqueous media form more organized structures which can be strong candidates for placement of essential oils. Objective: In this way the aim of the study was to obtain and characterize nanostructured systems containing OESA which, in contact with water becomes a liquid-crystalline mesophase high viscosity, with a potential application in larvicide control of *Aedes aegypti*.

#### 2. Methods

The systems were obtained by phase diagram composed of water, OESA, PPG-5 CETETH-20 and oleic acid and were characterized by polarized light microscopy (PLM), Small-angle X ray scattering (SAXS) and rheological analysis.

#### 3. Results

We observed four distinct regions in the diagram, liquid crystal (LC), emulsion (EM), microemulsion (ME) and phase separation. Through the PLM images, it was possible to differentiate the isotropic systems as the anisotropic systems. The measurements obtained by SAXS confirmed the structures visualized by PLM. In SAXS was observed broad peaks and low intensity by MEs which shows peaks of higher

narrower intensity and presence of "shoulders" for phase transition ME - CL. The study of the rheological properties showed Newtonian behavior for the MEs and non-Newtonian for the LCs. Thus we could observe the increase of the aqueous phase increases the elastic behavior of LCs.

#### 4. Conclusion

In our studies were obtained nanosystems. It was possible to observe the presence of structures that are a kind of phase precursors with potential action against *Ae. aegypti*.

#### Acknowledgments

I'd like to give thanks to Dra. Rogéria Nunes for this opportunity. And also the Dr. Victor Sarmento, for his contribution in my work. My gratitude is also extended to my colleagues the laboratory and FAPITEC / SE for financial support.

#### References

- <sup>(1)</sup>CANDIDO, L. P.; MONICA, T. Bioactivity of plant extracts on the larval and pupal stages of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 46, 420-425, 2013.
- <sup>(2)</sup> CARVALHO, F.C, et al. Nasal administration of liquid crystal precursor mucoadhesive vehicle as an alternative antiretroviral therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 84, 219–227, 2013.
- <sup>(3)</sup>LAGERWALL, J. P. F.; SCALIA, G. A new era for liquid crystal research: Applications of liquid crystals in soft matter nano-, bio- and microtechnology. **Current Applied Physics**, 12, 1387-1412, 2012.